ISSN 0388—841 X

BULLETIN
OF THE
NANSEI REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY

NO. 17

6060

南西海区水産研究所研究報告

第 17 号

Library
NOAA, National Marine Fisheries Service
SWFC Honolulu Laboratory F/SWC2
2570 Dole Street
Honolulu, HI 96822-2396

昭和59年9月
南西海区水産研究所
広島県大野町

NANSEI REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY
FISHERIES AGENCY
ŌNO-CHŌ, HIROSHIMA-KEN, JAPAN

September 1984

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

南西海区水産研究所研究報告

第 17 号

目　　次

石岡　宏子
マダイのストレス反応に関する生理生化学的研究…… 1
山口　峰生・安楽　正照
瀬戸内海西部周防灘における基礎生産について…… 135
福原　　修・福永　辰広
素堀池におけるヤムシによる仔魚の捕食…… 151
福原　　修
飼育したカタクチイワシ仔魚の一奇形…… 155
正木　康昭・伊東　　弘
伊予灘産メイタガレイの系統群の再検討…… 159
今井　一郎
周防灘における海洋細菌の粒子径組成と現存量…… 183
古賀　文洋
Chattonella antiqua (Chloromonadophyceae) の
形態及び増殖率への塩分の影響…… 197
岡本　　亮・松永　浩昌・船江　克美・久岡　　実
瀬戸内海におけるクロマグロ幼魚の飼育について…… 207
今井　一郎・伊藤　克彦
1983年5月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布…… 219

別途発表業績

福原　　修
飼育したカタクチイワシの発育と成長（英文）…… 235
福原　　修・伏見　　徹
アイナメの仔稚魚期における成長と発育（英文）…… 235
古賀　文洋
Temora turbinata（橈脚類，カラヌス目）の発育段階（英文）…… 236
岸田　周三・通山　正弘・堀川　博史
太平洋中部・南部沖合底びき網漁業漁場別漁獲統計資料，昭和57年1～12月… 236

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

マダイのストレス反応に関する生理生化学的研究

石 岡 宏 子

Physiological and Biochemical Studies on the Stress Responses of the Red Sea Bream, *Pagrus major* (Temminck et Schlegel)

Hiroko Ishioka

As the red sea bream is usually cultured in the net pen of the coastal area where environmental factors such as salinity, water temperature and pollutants are more variable than their natural habitats and the life of the fish in the net pen is very different from the natural one, environmental changes, rearing system including high density, handling and transportation may cause severe stresses to the cultured fish. So, the study of the adaptability to the biological and non-biological environment in physiological sense, i.e., stress responses, is a very important subject not only for the fundamental understanding of fish physiology but also for the development of the management of the red sea bream culture.

The present study was carried out to clarify the physiological responses of the red sea bream to various kinds of stressors hematologically and to analyze stress phases by cluster analysis. Hormonal control of the metabolism in the liver, muscle and adipose tissue during stress responses was also studied in vitro utilizing radio-labelled substances.

(1) Hematological changes were determined on the fish stressed by temperature changes. Thermal stress produced the increases of hemoglobin content, hematocrit value, serum cortisol level and serum glucose level, whereas cold stress decreased hemoglobin content and hematocrit value, and increased serum cortisol and serum glucose levels.

To clarify the phases of stress responses in the fish, the cluster analysis was applied by means of the Euclidean distances calculated by 3 variables: hematocrit value, serum glucose level and serum sodium level. Four phases were analyzed and these four phases were named as non-reactive, pre-reactive, reactive and exhaustive phase, respectively. Serum sodium level decreased slightly in the pre-reactive phase and serum glucose level and hematocrit value increased significantly in the reactive phase. In the exhaustive phase, a significant increase in serum sodium level was characteristic.

(2) Hematological changes were determined on the fish stressed by salinity changes. A rapid elevation of environmental salinity induced hyperglycemia, increases of serum sodium, chloride and cortisol levels of the fish. The fish exposed to a rapid lowering of salinity showed hyperglycemia, increases in serum cortisol level, and high hematocrit values and decreases in serum sodium and chloride levels. Above mentioned hematological changes depended on the magnitude and the rate of salinity changes.

The phases of stress responses were determined by means of the Euclidean distances.

1984年5月14日受理，南西海区水産研究所業績第140号，〒739-04 広島県佐伯郡大野町

Three phases were identified as non-reactive, reactive and exhaustive phases. Hyperglycemia was characteristically observed in the reactive phase while in the exhaustive phase, serum sodium level was observed to be remarkably influenced by environmental salinity.

(3) The red sea bream showed changes of various hematological parameters by the rapid decrease of oxygen levels of the water (3.75ml/l for half an hour and 3.5ml/l for 4 hours). The most typical changes were hyperglycemia and the elevation of serum cortisol level. Increases of hematocrit values and hemoglobin contents were also observed. These hematological changes were not observed by the slow reduction of oxygen levels (1.72ml/l and 1.29ml/l for 4 hours), though serum glucose levels increased slightly.

Three phases were identified by the cluster analysis. In addition to the non-reactive phase and the reactive phase characterized by hyperglycemia and high hematocrit value, the non-specified phase which was charactrized by remarkably low levels of three variables was observed.

(4) The effects of handling and anesthetization with MS222 (ethyl-m-aminobenzoate methane sulfonate) on the red sea bream were investigated with reference to selected hematological parameters. The exposure of the fish to the air for 1 min. in a hand net (mild handling) produced no significant changes in hemoglobin content, hematocrit value, serum glucose, sodium and chloride levels, except serum potassium level. On the otherhand, the forced insertion of fish flesh (1g) through a polyvinyl tube into the stomach (severe handling that the procedure had taken about 5-7 minutes) caused an elevation of serum glucose level immediately after the treatment. These changes in serum glucose and serum potassium levels persisted for several hours after the handling.

Anesthetization of the fish with 100 ppm MS222 did not affect hematological parameters at least within 10 minutes after treatment. Prolonged exposure (15-30 min.) to 50 ppm MS222 extremely elevated serum glucose and serum sodium levels. These changes in serum constituents suggested that osmoregulatory and metabolic dysfunctions had occurred by handling and anesthetization.

(5) Red sea breams were transported experimentally by the living wells ($1\times1\times1$ m) of a boat and in the polyvinyl container on the truck. The container contained 20 l of sea water and was tightly closed after blowing pure oxygen gas for 30 seconds. Changes in hematological parameters of the fish were studied during transportations. Two hour transportation of the fish immediately after loading in the boat living well produced hyperglycemia on the fish and some individuals also showed high hematocrit values and high serum sodium levels. However, transportation after 24 hours recovery from transferring did not produce any signs of stress responses. When the fish had been transferred one day before, transportation in the container produced remarkable hyperglycemia, comparatively constant serum sodium level and lower hematocrit value. It was suggested that these changes resulted from severe confinement and too high dissolved oxygen tensions in closed transporting system.

(6) Effects of angling on hematological parameters of the red sea bream were studied using wild red sea breams fished by a hook and line in the Seto Inland Sea. Hematocrit value, serum glucose level and serum sodium level of the fish after angling were 34.8 ± 4.87 (mean $\pm$s.e., n=31), 63.5 ± 25.14 (n=47) and 181.7 ± 20.00 (n=71), respectively. Serum sodium levels were fluctuated in each sampling season.

(7) Discriminant function analysis was carried out to distinguish stressed conditions of the red sea bream. From the cluster analysis on stress responses of the fish exposed to changes of water temperature and salinity and ambient oxygen reduction, non-stressed and stressed phase

were defined by 3 parameters that were 10× (hematocrit value), 100× log (serum glucose level) and serum sodium level. According to MAP (Multivariate Analysis Program Package) introduced by Computing Centre for Research in Agriculture, Forestry and Fishery, the discriminant function between non-stressed and stressed groups was defined. By applying 3 parameters of the fish stressed by handling, anesthesia, transportation and angling, the condition at blood sampling time in each fish was discriminated as non-stressed or as stressed phase. The results were shown in Table 18.

(8) In order to clarify the energy metabolism of tissues under stresses, in vitro experiments were conducted mainly using isotope techniques. Isolated tissue samples were prepared as follows. The liver was sliced by the Stadie-Rigg's slicer into 50-100mg pieces and the adipose tissue was cut into small pieces (ca. 20mg) by scissors. Muscle tissues were prepared by peeling off the pectoral fin muscles composed of musculus abductor superior, musculus abductor profundus and musculus arrector ventralis.

(9) Effect of starvation on the energy metabolism of isolated tissue samples was studied. After 2-month-starvation, tissue samples of the red sea bream were isolated and incubated in Kreb's bicarbonate ringer contained U-^{14}C-glucose as a substrate and the glucose incorporation was determined in sliced liver, sliced trunk muscle and adipose tissue pieces.

In fasted fish, condition factor, 100× (body weight/fork length^3), declined and relative liver weight decreased profoundly to a half value of that in fed fish in early summer time. In vitro experiment, incorporation of labelled glucose into CO_2 in fasted fish was significantly larger in liver and in adipose tissue on the basis of a gram of wet tissue. There was no difference in the amount of U-^{14}C-glucose incorporation into tissue and glycogen on the basis of a wet weight gram also. It was suspected that the rapid utilization of glucose and the depletion of stock material in the fasted fish would produce different patterns of stress responses hematologically.

(10) In order to clarify the relationship between hormones and the tissue metabolism, in vitro studies were conducted on the metabolic effects of epinephrine, glucagon of mammals, cortisol and bovine insulin to the isolated liver, adipose tissue and fin muscles of the red sea bream.

Liver slices incubated for one hour in Kreb's bicarbonate ringer blowed with 95% O_2 and 5% CO_2 gas at 25℃ released some amount of glucose. Epinephrine (10μg/ml) and glucagon (17μg/ml) enhanced the release of glucose from liver slices. On the other hand cortisol (10μg/ml) and insulin (10μg/ml) partially suppressed the glucose output.

Epinephrine, glucagon and insulin had no effect on the release of free fatty acid from slices of liver, fin muscle and adipose tissue during 3-hour incubation in Kreb's phosphate ringer. Cortisol slightly stimulated free fatty acid release from liver slices. Thus, epinepheine, glucagon and insulin induced similar effects on carbohydrate metabolism of the red sea bream in vitro to those of warm blooded animals.

(11) Effects of epinephrine on the glucose utilization by isolated tissues was studied in vitro using isotope technique. The experiment was duplicated. Among three kinds of isolated tissue, fin muscle was most active on the tissue incorporation and glycogen synthesis from the U-^{14}C-glucose in the incubation medium. In the experiment I, epinephrine inhibited the incorporation of U-^{14}C-glucose into glycogen in the liver and fin muscle and stimulated the production of CO_2 from U-^{14}C-glucose in the adipose tissue. On the other hand, only the suppression of labelled glucose incorporation into glycogen in the fin muscle was observed in the experiment II.

(12) Effects of cortisol on glucose, lactic acid and glycine utilization were studied in vitro.

Each substrate examined showed different behavior in respective tissues. Glucose was utilized effectively in all tissues for respiration and was incorporated into glycogen in the liver and fin muscle. Lactic acid was easily metabolized for respiration and converted to lipid and glucose in the liver, though it was scarcely incorporated into glycogen in liver and fin muscle. Glycine was effectively utilized for respiration and for glucose production in the liver slices though the incorporation into glycogen and lipid was relatively small. This amino acid was poorly utilized for respiration or for synthesis of glycogen and lipid in the fin muscle and adipose tissue.

Addition of cortisol into the incubation medium caused the inhibition of glucose incorporation into the fin muscle and stimulated glucose incorporation into lipid in the adipose tissue. Cortisol markedly decreased the incorporation of $U^{-14}C$-glycine into glycogen in the liver and moderately decreased glycine incorporation into the fin muscle. No effect of cortisol was observed on lactic acid utilization during one-hour incubation.

The actions of epinephrine and cortisol, which increased in circulatory blood when the fish was exposed to various stressors, were discussed in relation to hyperglycemia. The results obtained by in vitro studies suggested that the increase of blood glucose in the initial stage of stress responses were combined result of glucose production by glycogenolysis in the liver and muscle, inhibition of glucose utilization by peripheral tissues (i.e., fin muscle) and increased gluconeogenesis from substrates such as lactic acid and amino acid and so on. Especially, lactic acid was considered to be a major precursor to contribute to gluconeogenesis in the liver because it was easily produced in the muscle during tissue hypoxia in the stressed condition. Epinephrine seemed to play a leading role in the early stage of metabolism of stress responses.

目　　次

緒　言……8
第Ⅰ章　血液性状にみられるストレス反応……10
第1節　材料と方法……10
1．材料……10
2．実験装置……10
3．採血方法と分析方法……10
第2節　温度変化と血液性状変化……11
1．実験条件……11
2．実験結果……12
1）　一般的観察……12
2）　血液性状……13
3．考察……18
1）　温度順応の影響……18
2）　温度変動の影響……19

3） クラスター分析……20
第3節 塩分変化と血液性状変化……22
1． 実験条件……23
2． 実験結果……24
1） 一般的観察……24
2） 血液性状……24
3． 考察……28
1） 塩分上昇の影響……29
2） 塩分低下の影響……30
3） クラスター分析……31
第4節 環境水の酸素分圧低下と血液性状変化……33
1． 実験条件……33
2． 実験結果……34
1） 一般的観察……34
2） 血液性状……35
3． 考察……36
1） ヘモグロビン量とヘマトクリット値……37
2） グルコース量……39
3） コーチゾール量……39
4） 血液中無機成分量……40
5） クラスター分析……40
第5節 麻酔，取り扱い時の血液性状変化……42
1． 実験方法……42
2． 実験結果……42
3． 考察……43
1） 取り扱いのストレッサーとしての意義……43
2） グルコース量……44
3） 血液中無機成分量……45
4） ヘモグロビン量とヘマトクリット値……45
5） ホルモン……46
6） 反応の時間的経過……46
第6節 輸送時の血液性状変化……47
1． 実験方法……48
2． 実験結果……48
3． 考察……51
1） コーチゾール量……52

2)　グルコース量……52
3)　乳酸……52
4)　無機成分量……53
5)　ヘマトクリット値とヘモグロビン量……53
6)　輸送時のストレス反応の特徴……53
第7節　釣り上げた天然魚の血液性状……54
1.　実験方法……54
2.　実験結果と考察……55
第8節　小括……57
第Ⅱ章　ストレス反応時の物質代謝……64
第1節　実験方法の検討……64
1.　組織標本の調製……65
1)　組織標本の作製方法……65
2)　組織切片の厚さ……65
3)　摘出組織標本の反応の個体差と反応時間……65
2.　培養実験系の検討……66
1)　組織代謝量の測定方法……66
2)　摘出組織の生存性……67
3)　同一個体組織の反応の定量性……68
3.　分析方法の検討……68
4.　実験マニュアル……70
第2節　飢餓魚の摘出組織標本におけるグルコースの代謝……72
1.　実験条件……72
2.　実験結果……72
3.　考察……73
1)　飢餓時の計測学的変動……73
2)　飢餓時の化学成分の変動……74
3)　飢餓時のグルコース利用……75
第3節　摘出組織標本からのグルコースおよび
脂肪酸遊離におよぼす各種ホルモンの影響……76
1.　実験条件……77
2.　実験結果……77
3.　考察……78
1)　エピネフリン……79
2)　グルカゴン……80
3)　コーチゾール……80

4) インスリン……83
5) ストレス時の物質代謝に関与するホルモン……84
第4節 エピネフリンの物質代謝にあたえる影響……85
1. 実験条件……85
2. 実験結果……85
3. 考察……87
1) 組織における炭水化物代謝……87
2) エピネフリンの効果……88
第5節 コーチゾールの物質代謝にあたえる影響……89
1. 実験条件……89
2. 実験結果……90
3. 考察……92
1) グルコースの代謝とコーチゾール……92
2) 乳酸の代謝とコーチゾール……93
3) アミノ酸の代謝とコーチゾール……93
4) ストレス時の血糖上昇とコーチゾール……95
第6節 小括……96
1. ストレス時の血糖上昇機構……96
2. グリコーゲン分解による血糖上昇……97
1) 肝臓グリコーゲン分解……97
2) 肝臓からのグルコース遊離……97
3) 筋肉グリコーゲンからのグルコース生成とその放出……99
3. 糖新生……99
1) 乳酸からの糖新生……99
2) アミノ酸からの糖新生……99
3) 脂肪酸・グリセロールからの糖新生……100
4. 血糖利用組織への取り込み・利用の抑制……100
第Ⅲ章 総括……101
1. ストレス反応の定義……101
2. ストレッサーとストレス反応……102
3. ストレス関与ホルモンとストレス反応……107
4. 環境要因のストレッサー強度と生存限界値……110
要 約……112
謝 辞……115
文 献……116

緒　　言

最近の世界的な200海里漁業水域体制への移行とともに，日本における漁業生産の維持増大は一層の重要性を叫ばれるようになり，特に需要に応じた中高級魚の選択的生産と，それを支える漁業経営の安定が望まれている。その基盤としての増養殖技術の発展は著しいものがあり，特に，海産魚の増養殖は国民の需要に沿って養殖対象魚種を拡げ，かつ生産量を増大させる技術的基盤が整備されてきた。

マダイは典型的な養殖対象魚種であり，その養殖生産量は著しく増大し，昭和56年度には17,953トンに達した。これは需要と本種の持つ環境条件の変化に強いという生物学的条件および種苗量産技術とその体制の確立という条件が整ったためと考えられている。

しかし，一方，これら種苗生産や増養殖技術に内在する各種の問題点も明確に浮かび上ってくるようになった。

元来，養殖技術の基本的成立条件は種苗，餌料，場所（環境）にあるとされる。マダイの増養殖技術の発展を考える時に，どの条件にも共通に浮き上ってくる問題がある。それは“魚の健全性”である。

現在，マダイの種苗生産技術の中で解決を迫られている問題に奇形魚の出現と生産の不安定性がある（北島1978，九州・山口ブロック水産試験場マダイ種苗生産研究会1977）。これらに関しては形態や生残率を指標として試行錯誤的に問題解決の試みが行われており，部分的には若干の原因の抽出を行うに至っているが，根本的な解決までの道程はなお遠い。マダイの生理生態に基づいた“魚の健全さ”の概念の混乱と，複合的要因解析の不充分さが残っていると考えられる。

マダイ種苗生産期の餌料は生物餌料（ワムシ，橈脚類等）に限られていたが，大量生産規模ではこれら餌料を十分に確保することが困難なため，酵母類を餌料としたワムシの生産方式が考えられた。しかし，この酵母培養ワムシで飼育したマダイは虚弱であり（伏見1975），生残率が低下することが報告され，この原因が高度不飽和脂肪酸の欠乏によることが指摘された（米・藤井1975a，米・藤井1975b）。マダイの場合，摂餌性や消化能力等（池田1977）から従来より配合飼料使用の可能性が言われており，稚仔魚期から成魚に至るまでの配合飼料研究が集中的に行われている（米ら 1971a, b, 竹田・米 1971, 古市ら 1971a, b, c）。これら飼料研究の場合にも，飼料効果の判定はマダイの成長量および“健全性”によって行わざるを得ない。

また，マダイの増養殖技術は沿岸浅海域を利用しているため，生息環境要因の変動が大きく，同時に集約的飼育方法を採ることに由来する水質環境汚染問題や疾病問題が起ってくることが多い。人為管理下におけるマダイが外部環境要因の変動や異常にどのように反応し適応しているかを知ることは，魚の“健全さ”を知ることと同質の問題と考えられ，これらの知見は増養殖技術の基礎として欠くことができない。

また，養殖魚の疾病に関しては，近年特に各種の問題が多発している。マダイもその例外ではなく，各種の細菌性疾病，ウィルス性疾病，飼料性疾病等による被害が増加している（南西海区ブ

ロック会議魚貝類研究会魚病班1980)。この養殖魚の疾病被害の軽減のためには，多大の努力が払われているが，共通した認識としては，魚病対策としては治療よりも予防に重点を置く必要のあること，そのためには健全な魚を作る養殖技術の確立と病魚の早期発見が重要であることが指摘されている。そして，これら疾病の予防と診断のために，血液性状や成分の分析結果を，診断指標として用いようという研究も進められるようになった(池田1976, WEDEMEYER and YASUTAKE 1977, SMITH and RAMOS 1980)。

これら増養殖の現場や研究の場で直面する各種問題の根底にある魚の“健全性”をどのように規定するかは難しい問題であるが，「各種生物学的，非生物学的環境条件変化に幅広く適応できる能力」と考えることも出来る。

“適応”という概念は時間的経過で考えると大きく3区分できる。まず，数秒から数日にわたる急激な調節作用を必要とする適応，数時間から数カ月におよぶ順応を含む反応，数世代を超える進化の概念も含める適応といった概念である。マダイの増養殖生産に関連して魚の“健全性”を考える時に問題となるのは前二者の“適応”であり，特に，「生物は個体の維持，防護のために動員できるエネルギー量は種毎に一定の限度がある」(SELYE, 1950) という考え方を明確に含んでいる短時間の調節反応は，ストレス反応と呼ばれ，最近，水産分野でも注目されるようになった。それは，種苗放流や移殖される生物の“健全性”が直接，その後の効果を大きく左右することが明らかになってきたためである (WEDEMEYER et al. 1980)。このために，いわゆる負荷試験を行い，その反応性によって対象グループの“健全性”，いいかえれば適応能力を判断しようという試みが行われるようになった (WEDEMEYER and MCLEAY 1981, 藤谷ら1972)。

このように技術として魚の臨床診断の体系化の研究が行われ，その中で魚の反応性が問われるに至っているにもかかわらず，魚についての明確なストレス反応に関する研究は少ない。魚に与えられる各種の刺激（ストレッサー）とそれに対する生物の生理学的反応を把握しようとする研究は多いが，ストレス反応として明確に位置づけ考察している例は少ない。

本研究では，マダイを用いて，魚におけるストレッサー・ストレス反応の一端を明らかにするための実験を行った。

まず，第Ⅰ章では，魚におけるストレス反応を血液性状，成分ではどのような症状として把握できるかを知るために，一連の環境要因の急激な変化をストレッサーとした時の血液性状の変動を明らかにし，それらを総合した生理学的状態を分類した。第Ⅱ章では，ストレス反応時の物質代謝系の機構を明らかにするために，摘出組織標本を用いてホルモンによる物質代謝制御に関する実験を行った。第Ⅲ章では，第Ⅰ章，第Ⅱ章の結果をふまえ魚類のストレッサーとストレス反応の関係を考察した。本研究が，種々な条件下の魚の生理学的状態を考える時の一助ともなれば幸である。

第Ⅰ章　血液性状にみられるストレス反応

第1節　材料と方法

1．材　　料

供試マダイ *Pagrus major*（TEMMINCK et SCHLEGEL）は原則として広島県沖美町の種苗生産業者によって種苗生産され，その後同養殖場で生鮮魚（イカナゴ，イワシ等）と粉末配合飼料との混合練餌やマダイ用配合飼料（ペレット）を与えられ飼育された一年魚を用いた。養殖場から船で輸送された供試魚は，屋外の2トンコンクリート水槽に収容し，飼料として，マダイ用配合飼料，カキ，イカナゴ等を1日に2回与え，実験開始までストックした。この期間は実験群毎に異なったが，1週間から1カ月の範囲であった。

実験に先立って必要尾数を水槽室内に設置した実験水槽に収容し，少なくとも5日間はこの実験系に慣らした。

2．実験装置

この実験系は原則として Fig. 1 に示したものを用いた。Fig. 1 中，A, B, D, E 水槽は0.3

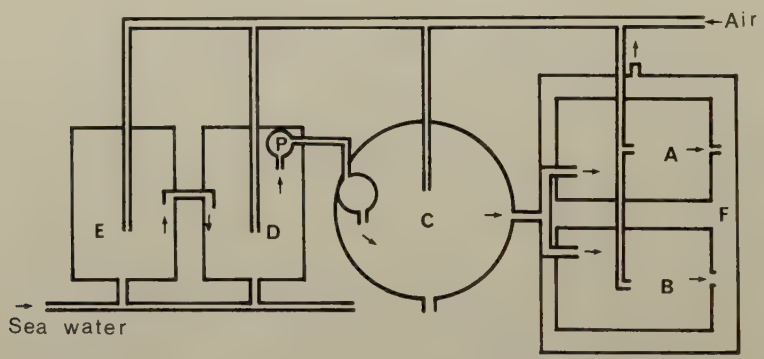


Fig. 1. Diagram of apparatus system used to study stress responses in the marine fish.
P; pump　A, B; Experimental tank　D, E; Control tank
C; Tank for preparing stressor sea water　↑; Rout of sea water flow.

トン（0.5×0.95×0.65m）のポリカーボネイト角型タンクで，A, B は実験水槽（ストレッサーを与えるための水槽），E, D は対照水槽（同一水系でストレッサーを与えない対照魚を収容する水槽）とした。C は0.5トンの円型タンクで，この水槽でストレッサーとなる海水の条件，水温，塩分，酸素濃度を調整し，この条件の水がサイフォンで実験水槽 A, B に流入する。目的とする実験条件以外の要因の混入はさけるように努めた。この水はさらに外側の水槽 F に導びかれこれよりオーバーフローで排出した。それぞれの実験条件は各実験項目で述べる。

実験水槽には15尾以上の魚の収容をさけ，サンプリングは可能な限り静かに行った。

3．採血方法と分析方法

実験開始後は，適当な時間毎にマダイをとり上げ，麻酔をせずに直接キュビエ氏管より，1/2

針付シリンジで採血し，一部は直ちに抗凝固剤の粒末ヘパリン酸ソーダを加え，ヘマトクリット，ヘモグロビン，血漿屈折率等の測定に供した。他は直ちにプラスチック遠沈管にとり，すぐに冷蔵庫内に放置し，1時間後に遠心分離により血清を得た。この血清は分析に供するまで−20℃で凍結保存した。

ヘモグロビン量は A. O. 社製のヘモメーターにより（松里，北島1972），一部はシアンメトヘモグロビン法による試薬キットを用いて測定した。一つの実験には同一方法を用いた。

ヘマトクリット値はミクロヘマトクリット法により，全血を12,000r.p.m. で5分間遠心分離して求めた。

血清について蛋白質量はミクロビューレット法により，グルコース量は酵素法（丹羽他1966）により，クロライド量はシャールス・シャールス変法（馬場，奥田1973）により，それぞれ SPINCO の超微量分析装置を用いて分析した。ナトリウム，カリウム，マグネシウム，カルシウム量は原子吸光法により，またコーチゾール量は，マダイの血清中の主要コルチコステロイドがコーチゾールであることを薄層クロマトグラフで確認した後，Amersham 社 RIA キットを用い RIA 法（Ruder et al. 1972）によって求めた。その結果は石岡・石岡（1978）の方法により計算し血清中含有量を算出した。

第2節　温度変化と血液性状変化

マダイの棲息域は北海道南部から本州全体にかけて分布し，さらに南支那海に至っており，温度適応範囲はかなり広いものと考えられている。しかし温度要因とマダイの生理・生態学的諸性質との関係に関しての報告例は少なく，梶山・西岡（1930），Apostolopoulos（1976）の稚仔魚飼育時の実験例がみられるのみであった。最近，マダイ養殖が広く行われるようになると，冬期の温度条件が生残，成長に大きな影響を持つことが知られるようになった。山口（1978）はマダイ養殖適地条件として冬期の水温低下状況が重要であることを指摘しており，坂口・浜口(1979)はマダイで冬期から春期にかけてみられる緑肝症が冬期の低水温と関係が深いことを報告している。

ここでは，温度の上昇，下降をストレッサーとした時のマダイの血液性状の変化を明らかにすることとした。

マダイは通常の養魚飼育条件下で起こっている程度の水温変動には容易に順応できると考えられるので，設定温度と温度変化速度はマダイの生理学的恒常性を乱す大きさのものとし，温度上昇刺激実験を4回，温度低下刺激実験を2回それぞれ行った。

1. 実験条件

実験条件の概要を Table 1 に示した。この温度変化刺激実験では実験系への順化期間には生カキ等を1日に2回程度投与したが，実験開始2日前から実験中は投餌を行わなかった。

Fig. 1 に示したストレッサー調整水槽 C で，所定の水温の海水を用意した。温度を上昇させる場合はチタン製 1kw 投込みヒーター2本と 1kw および 500w のプレートヒーターを組み合わせて C 水槽に設置した。温度調節のセンサー部分を実験水槽（A, B）に設置した。温度分布

Table 1. Summary of experiments on the hematological changes in the red sea bream stressed by temperature changes (mean±s. d.).

Experiment number	I	II	III	IV	V	VI
Date of experiment	May 1977	May 1977	June 1977	July 1978	June 1977	July 1978
No. of the fish	25	20	20	40	30	40
Body length (cm)	12.3±0.75	12.5±0.63	11.9±0.55	14.2±0.85	11.3±0.86	14.7±0.89
Body weight (g)	59.7±9.61	61.1±9.66	53.3±5.80	98.7±14.4	49.8±12.5	108.9±17.8
Experimental tank	A,B	C	A,B	A,B	A,B	A,B
Water flow system	Running	Still	Still	Running	Running	Running
Acclimation period (day)	7	7	7	10	7	7
Acclimation temperature (℃)	16.5-18.0	18.0-18.5	18.0-19.0	22.5-26.5	18.0-19.5	24.0-26.0
Attained temperature (℃)	25.8	30.2	30.1	30.9	7.8	11.1

を均一にするためにエアレーションによる攪拌を十分に行った。温度を低下させる場合には，あらかじめ凍結しておいた海水を調整水槽 C に投入することによって達成した。予備実験で，実験水槽 A，B にサリノメーターを設置しモニターした例では，氷投入時の塩分変化は0.5‰程度であった。この場合にも温度均一化と酸素補給のためエアレーションは調整水槽 C と実験水槽のサイフォン管設置部分で十分に行った。水温の測定は A, B, 水槽の排水口で行った。

これら実験の温度変化状況を Fig. 2 に示した。

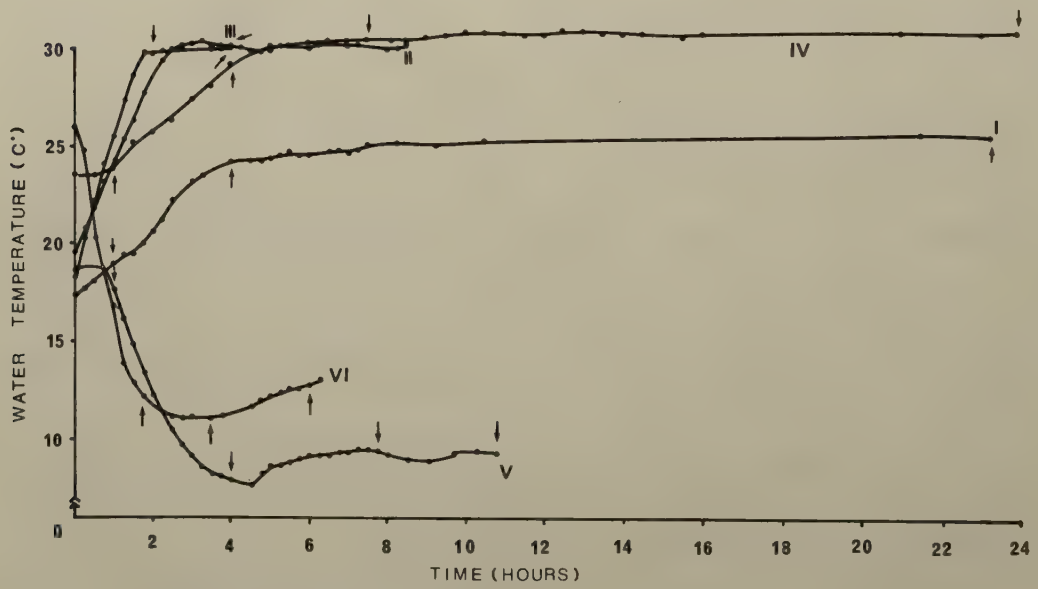


Fig. 2. The changes of water temperature during experiments.
I-VI; Experiment number　Arrows; Sampling time.

2. 実験結果

1) 一般的観察

実験Ⅰでは約17℃から4時間かけて約24℃にまで水温上昇を行い，その後25℃前後に，水温を

20時間にわたって維持したが，全実験期間中，魚の異常行動は認められなかった。

実験Ⅱでは19℃から約2時間で30℃に水温を上昇させたが，温度上昇開始後15分ころから魚の遊泳速度はやや早くなり，25分後には水面に浮上してきて，鼻上げ状態を示す魚が数尾認められた。4時間後には衰弱したようにみえる魚が多く，5尾は横転しており3尾生残した。7時間後にはその3尾中の1尾が飛び出し，8時間後には2尾のみ生残していたのでこれから採血した。

実験Ⅲの場合には水温変化は実験Ⅱとほぼ同様であり，魚にも実験Ⅱの場合と同様な行動異常が認められ，実験開始後2時間して，1尾，4時間後にはさらに1尾が斃死した。

実験Ⅳの場合には24℃から5時間で30℃にまで水温を上昇させたが，魚には特別な異常行動は認められなかった。

実験Ⅰ，Ⅳの場合は最終温度は異なるが，温度上昇速度は類似しており，その温度上昇速度（℃/h）は実験Ⅱ，Ⅲの場合よりも緩やかであった。実験Ⅱ，Ⅲの温度条件はよく似ており，魚の行動や斃死状況からみると，温度上昇速度が急激で順応できない状態に魚がおかれたものと考えられた。

実験Ⅴでは19℃から4時間で約8℃まで水温を低下させた。実験開始1時間後にはいわゆる鼻上げ症状を示す個体が認められ，4時間後には1尾が斃死した。その後，魚の動きはにぶくなり，7時間目以後（約9℃）は，ほとんどの魚は底面に静止して動かない状態であったが，横転した個体はみられなかった。

実験Ⅵでは25℃から約2時間で11℃まで水温低下させたが，実験開始後30分頃から行動異常魚が認められ，1時間後には，実験Ⅴの場合と同様，鼻上げ症状を示す個体が認められた。2時間後からは横転する個体がみられ，3時間半後にはほとんどの魚が横転していた。この実験ⅤとⅥの温度低下条件は上述の行動から，マダイにとって十分には順応しきれない温度降下速度であると判断された。

2) 血液性状

血液性状分析結果を **Table 2, Table 3** に示した。ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量の経時的変化を **Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5** に示した。

ヘモグロビン量：水温上昇はマダイの血液ヘモグロビン量を一過性に増加させる傾向があった（**Table 2**）。全体的にみるとヘモグロビン量は実験開始後徐々に増加し始め，4時間から7時間の間に最高値に達し，その後は減少するという共通の傾向がみられた。実験Ⅰでは温度上昇がゆるやかであり温度差は約8℃で到達温度を25℃前後としたため，統計的有意な変化は現われなかったと考えられる。実験Ⅲではヘモグロビン量の増加の傾向が認められたが，個体差が大きく統計的有意差を示さなかった。実験Ⅳの結果とも考えあわせると，もう少し長時間観察すればヘモグロビン量の増加が認められたかもしれない。

温度低下刺激の場合（**Table 3**）には，ヘモグロビン量は一時的に減少する傾向があった。実験Ⅴの7.5～8時間後と実験Ⅵの6.25時間後に有意差のある値が認められた。

ヘマトクリット値：温度上昇（**Fig. 3**）に対して，実験ⅡとⅣで実験開始後4時間で有意に高い値が認められた。ヘマトクリット値の変化の時間的経過はヘモグロビンのそれとほとんど同様

Table 2. Variations in hematological and serum characteristics of the red sea bream under thermal stress (mean±s.e. with number of fish in parenthesis). Experiment number is corresponding to that of Table 1.

Experiment Time(h)	Hemoglobin (g/dl)	Protein (g/dl)	Chloride (mEq)	Potassium (mEq)	Magnesium (mEq)	Calcium (mEq)	Cortisol (ng/ml)	Cluster** number
I 0 (Control)	6.3±0.39 (5)	2.89±0.07 (5)	170.9±1.25 (5)	7.78±0.73 (5)	1.40±0.10 (4)	7.01±0.17 (4)	27.3±23.67 (5)	
1	5.9±0.37 (5)	3.04±0.15 (5)	175.2±2.07 (5)	8.12±0.78 (5)	1.36±0.05 (5)	6.66±0.12 (5)	22.1±21.76 (5)	1
4	6.6±0.21 (5)	3.27±0.17 (5)	179.6±2.81* (4)	7.70±0.76 (5)	1.47±0.09 (2)	7.02±0.13 (2)	2.80±2.80 (5)	2
24	6.0±0.45 (7)	3.60±0.13* (7)	178.4±1.60* (7)	5.51±1.16 (7)	1.80±0.15 (4)	7.92±0.40 (4)	11.8±8.73 (6)	3
II 0 (Control)	4.7±0.46 (5)	2.48±0.19 (4)	170.2±3.74 (5)	6.25±0.58 (3)	1.74±0.37 (3)	6.13±0.29 (3)	91.6±45.57 (4)	
1	5.9±0.39 (5)	3.12±0.09* (5)	170.2±1.43 (5)	7.16±0.69 (5)	1.36±0.07 (4)	7.13±0.18* (4)	65.9±26.30 (5)	4
4	7.9±0.49* (6)	3.83±0.19* (6)	184.8±3.10* (6)	12.72±2.53 (5)	3.43±0.24* (2)	8.13±0.30* (2)	46.8±16.68 (6)	5
8.5	5.3±1.25 (2)	2.68 (1)	178.0±1.07 (2)	4.96 (1)	1.73 (1)	6.98 (1)	53.5±1.30 (2)	6
III 0 (Control)	6.2±0.45 (5)	3.28±0.19 (5)	167.7±1.89 (5)	5.15±0.94 (5)	1.79 (1)	7.65 (1)	2.0±1.38 (5)	
2	6.4 (1)	2.74 (1)	173.7 (1)	2.87 (1)	—	—	47.5 (1)	
4	6.9±0.20 (3)	3.45±0.08 (9)	171.3±1.14 (9)	4.03±0.28 (8)	1.61±0.01 (2)	7.41±0.15 (2)	26.4±5.10* (8)	7
IV 0 (Control)	6.3±0.44 (10)	3.05±0.11 (10)	158.2±3.56 (10)	4.81±0.46 (10)	1.72±0.07 (8)	6.87±0.28 (8)	3.2±1.97 (5)	
4	7.6±0.25* (10)	3.24±0.15* (10)	169.2±3.94 (10)	4.49±0.35 (10)	1.98±0.11 (8)	7.46±0.15 (8)	20.5±7.09* (5)	8
7.5	7.8±0.35* (10)	3.37±0.17 (10)	162.4±5.83 (9)	4.41±0.70 (8)	2.18±0.12 (4)	7.81±0.18 (4)	23.4±11.58 (5)	9
24	7.1±0.26 (10)	3.16±0.05 (9)	156.9±5.46 (9)	3.76±0.58 (8)	2.03±0.04 (6)	6.77±0.17 (6)	24.3±7.03* (5)	10

*; significantly different from control values ($p \leq 0.05$).

**; Cluster number (See Fig. 6).

であった。実験Ⅳの結果から30℃前後になってもマダイが温度に順応し生残しえた場合には時間と共に対照の値に復帰する傾向がみられた。

温度低下に対して，実験Ⅴでは特に顕著な変動は認められなかったが，実験Ⅵでは1.75時間と6.25時間にヘマトクリット値の有意な減少が認められた。この実験Ⅵで興味深いのはヘマトクリット値の増加と減少が交互に大きく起こっている点で，この傾向もヘモグロビン量の変動と並行していた。

蛋白質量：温度上昇による値の変動は小さいが，有意な増加が認められた。その変化は，多少のズレはあるものの，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値の増加と同じ時間に起った。実験Ⅰの24時間後の蛋白質量は有意な増加を示した。

温度低下に対しては血清蛋白質量の減少の傾向があり，実験Ⅴ，Ⅵで有意差が認められた。全

Table 3. Variations in hematological and serum characteristics of the red sea bream under cold stress (mean±s.e. with number of fish in parenthesis).

Experiment	Time(h)	Hemoglobin (g/dl)	Protein (g/dl)	Chloride (mEq)	Potassium (mEq)	Magnesium (mEq)	Calcium (mEq)	Cortisol (ng/ml)	Cluster number
V	0 (Control)	6.5±0.28 (5)	2.86±0.12 (5)	161.0±0.80 (5)	8.28±0.40 (5)	1.47 (1)	6.94 (1)	16.4±7.78 (5)	
	1	5.6±0.64 (5)	3.04±0.27 (5)	160.6±7.06 (5)	5.82±0.56* (5)	1.52 (1)	6.77 (1)	43.4±23.15 (5)	11
	4	5.9±0.45 (5)	2.88±0.12 (5)	158.2±0.75* (5)	1.20±0.27* (5)	2.02 (1)	6.88 (1)	203.8±45.60* (5)	12
	8	5.0±0.40* (5)	2.46±0.10* (5)	157.0±1.02* (5)	4.71±0.41* (5)	1.66±0.19 (2)	6.75±0.30 (2)	97.6±42.59 (5)	13
	11	5.4±0.57 (4)	2.97±0.14 (4)	161.3±1.89 (4)	3.36±0.53* (3)	3.55±1.44 (2)	7.52±0.49 (2)	51.3±15.97 (4)	14
VI	0 (Control)	7.0±0.51 (5)	3.03±0.09 (5)	178.0±5.22 (5)	4.50±0.29 (5)	1.81±0.06 (3)	5.99±0.09 (3)	t** (2)	
	1.75	6.1±0.24 (10)	2.52±0.09* (10)	171.2±2.59 (10)	3.90±0.21 (10)	1.83±0.03 (8)	5.56±0.15 (8)	62.4±19.06* (5)	15
	3.5	6.0±0.55 (7)	3.39±0.25 (6)	185.7±3.10 (7)	5.38±0.50 (4)	2.72±0.01* (2)	5.87±0.35 (2)	129.9±35.68* (4)	16
	6.25	5.7±0.31* (9)	2.43±0.11* (9)	176.0±2.98 (9)	3.07±0.42* (7)	3.15±0.22* (6)	6.18±0.36 (6)	111.5±39.20* (4)	17

Cluster number; See Fig. 6.

*; Significantly different from control values ($p \leqq 0.05$).

**; undetectable.

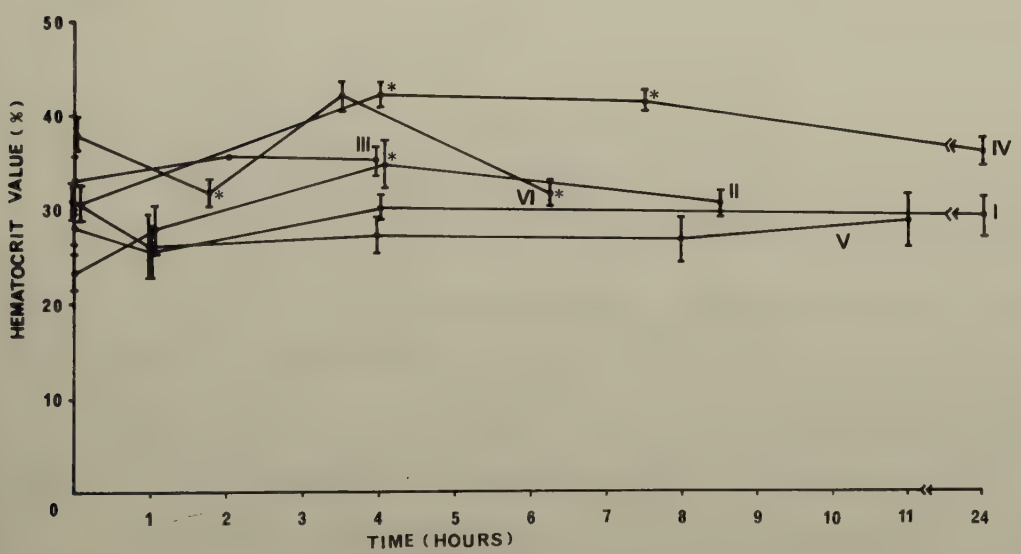


Fig. 3. Variations of hematocrit values in red sea breams under the experiments on water temperature changes (mean±s.e.).

Ⅰ-Ⅵ; Experiment number.

*; Significantly different from O-hour control level at the 95% level by analysis of variance.

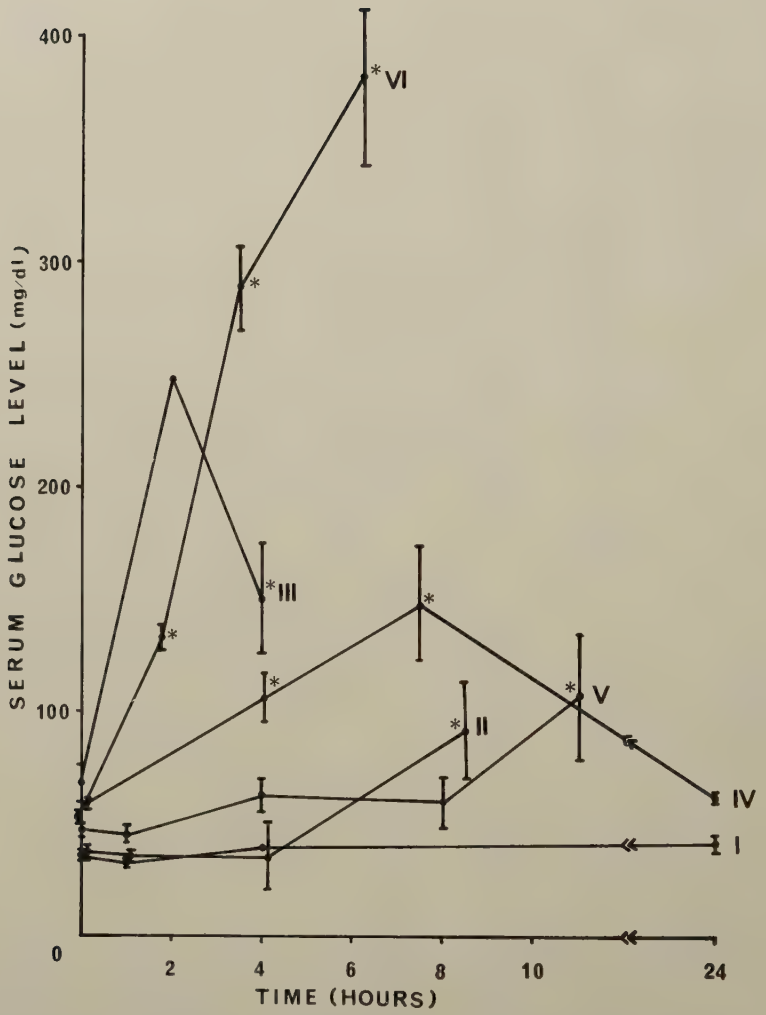


Fig. 4. Variations of serum glucose levels in red sea breams stressed by changes of water temperature. Symbols and the number are the same as those in Fig. 3.

般的にみるとヘモグロビン量やヘマトクリット値の変動と類似していた。

グルコース量：温度上昇の場合（Fig. 4），グルコース量の増加が認められた。実験Ⅰのような最終温度や温度上昇速度では，グルコース量の増加はみられなかった。実験Ⅱの4時間目のグルコース量の平均は対照値と変らない値を示したが，標準誤差の大きさからも推察できるように，低値と高値の混合から成っていることからみて有意な高血糖は4時間頃から起こっていることがわかる。温度上昇速度の大きい実験Ⅲ，Ⅵでは速かで著しい血糖増加が認められた。

温度低下の場合（Fig. 4）にもグルコース量は明らかに増加した。実験Ⅴでは11時間でピークを示した。

実験Ⅵでは6時間までの観察なので，この後どのような経過をとるかはわからないが，ピークに達した後低下するであろう。温度変化によって血糖値は増加するが，温度変化の条件や魚の状

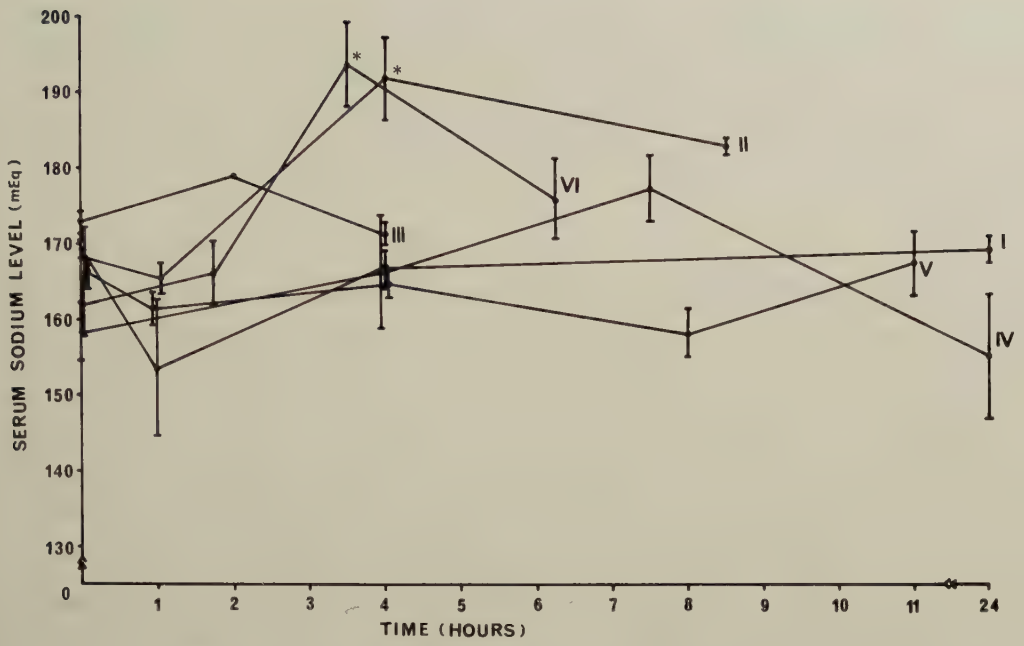


Fig. 5. Variations of serum sodium levels in red sea breams stressed by changes of water temperature. Symbols and the number are the same as those in Fig. 3.

態によってグルコース量増加速度や変化の大きさに差がみられた。

クロライド量：温度上昇の場合には（Table 2）クロライド量は増加する傾向がみられた。この変化は比較的ゆるやかで，実験ⅠとⅡで4時間目に有意差を示した。温度低下（Table 3）に対してはクロライド量の減少が認められる場合（実験Ⅴ）と有意な変動が認められない場合（実験Ⅵ）とがあった。

ナトリウム量：温度上昇に対してはナトリウム量の増加が認められる時点があり（Fig. 5），クロライド量とほぼ同様な傾向を示した。増加時期が実験開始後4時間目から7～8時間目にあることもクロライド量の変化の場合と同様であった。実験Ⅰでは1時間後に平均値は低下したが個体差が大きく有意な変動は認められなかった。

温度低下に対して，実験Ⅴではナトリウム量の変動は小さく，有意な変動は認められなかったが，実験Ⅵでは3.5時間目に有意の増加が認められた。

クロライド量とナトリウム量の変動の傾向は基本的にはほぼ同じであり，温度上昇刺激に対しては一過性の増加の方向が顕著であるが，温度低下刺激に対しては一過性の減少がみられる場合と一過性の増加が認められる場合があり現象は複雑であった。

カリウム量：温度上昇に対しては個体差が非常に大きく，カリウム量の変動傾向は明らかでなかった。温度低下刺激に対しては，実験ⅤとⅥでカリウム量の有意な減少が認められた。

マグネシウム量とカルシウム量：これら二価のイオンは個体差は比較的少なく，安定しており，大きな変動を示さなかった。温度上昇に対しては実験Ⅱでマグネシウムとカルシウム量の増加が，温度低下に対しては実験Ⅵでマグネシウム量の増加が認められた。

コーチゾール量：温度上昇に対して実験ⅢとⅣで対照値に対して有意な増加が認められた。実験ⅠとⅡでは，対照値が相対的に高かったためか有意差は認められなかった。温度上昇に対してコーチゾール量は増加する傾向はあるが，増加量そのものはそれほど大きくはなかった。

温度低下に対しては，実験ⅤとⅥともに実験開始後3.5時間から4時間で極端に高い値が認められた。

3．考　察

温度の血液学的影響に関する報告例は比較的多い。中でも，種々な温度に十分に順応させた場合の血液性状についての報告が多く，温度変化直後からの，動的な過渡現象，更にいえばストレス反応としてのとらえ方での実験例は決して多くはない。

1）温度順応の影響

種々な温度に十分に順化させたとする魚の血液性状に関する研究のうち，特に高温順応時には酸素利用能との関連での報告がみられる。Neal et al.（1977）は低温生息魚の horn shark を25℃に順化した時にヘモグロビン量，ヘマトクリット値，MCV，MCH が増加すると報告し，Houston and DeWilde（1969）はカワマスの高温順化で赤血球数，ヘマトクリット値が増加するとし，キンギョやニジマスでもヘモグロビン量は増加するとしている（Houston and Cyr 1974）。また Cameron（1970）は pinfish（*Lagodon rhomboides*）や striped mullet（*Mugil cephalus*）でヘモグロビン量，ヘマトクリット値の増加を，Farghaly et al.（1973）はティラピアで赤血球数とヘモグロビン量の増加を報告している。

血中電解質についての報告もみられ，Umminger and Gist（1973）はキンギョを高水温(32℃)に順応させた時の取り扱い，コーチゾールやアルドステロン注射の影響をみたが，対照値との比較で血中クロライド，ナトリウム，グルコース量や体水分量には差がみられないとしている。一方，Stanley and Colby（1971）は海水，淡水それぞれに順化した *Alosa pseudoharengus* で血中ナトリウムは30℃以上の場合に増加し，淡水順化魚では特に血中カルシウム量が増加したと報告している。Houston and Madden（1968）はコイを33℃に順化した場合，血中ナトリウム量は減少し，クロライド量は増加するとしている。

これら高温順応後の魚の血液性状や血中電解質量の変動に関しては結果は一致しておらずその理由は魚種，実験方法，分析方法等の相違のためと考えられるが，本研究の実験結果にもみられるように経時的な変動が大きいのでサンプリング時期の相違もこれら結果の不一致の要因となっていると考えられる。

これに対して低温度条件に順応した場合の魚の血液性状は比較的まとまっている。ヘモグロビン量やヘマトクリット値に関しての報告は少ないが血清グルコース量の増加を Nace and Schuh（1961），Umminger（1969b）が海産魚 *Opsanus tau* や海水順化した *Fundulus heteroclitus* について報告しており，総コレステロール値や総脂質量の増加等も報告されている。また血清無機成分の変動については，Houston and Madden（1968）がコイで，Umminger（1969a, 1970, 1971）は海水順化した *Fundulus heteroclitus* や *Ictalurus nebulosus* や *Pseudopleuronectes americanus* で，また Allanson et al.（1971）はティラピアで，Stanley and Colby（1971）は *Alosa*

pseudoharengus で，PROSSER et al. (1970) はキンギョで，それぞれナトリウム，カリウム，カルシウム，クロライド，燐酸塩等の量の変動についての記載をしている。このように，血中無機塩量が低水温順応で変動することは報告が多いが，その変動の方向は減少するという結果と増加するという結果の相反するものが出されている。これは LOVE (1980) が総括しているように主に淡水性か海水性かによるらしい。

2) 温度変動の影響

温度刺激対応反応としてストレス反応を血液学的レベルでとらえた例もいくらかみられる。HEINICKE and HOUSTON (1965) は20℃に順化したキンギョを36～38℃のタンクに移しその後経時的に採血し血中クロライド量を測定し，10分後のその顕著な減少を報告している。WEDEMEYER (1973) は，10℃に順化した steelhead trout や coho salmon で，飼育水を3分以内に20℃に上昇させ，その後の血液性状を測定しており，魚種によって若干の差はあるとしても，1時間から5時間の間のグルコース量の増加と1時間後からのヘモグロビン量の増加を認め，しかもこれらは一過性の反応であることを示している。FRYER (1975) はキンギョで特に血中コーチゾール値に注目し，20℃から35℃の飼育水に10分間入れるという温度ストレスで血中コーチゾール量が顕著に増加することを報告している。この時のコーチゾール値は本実験で得られた値に近いことは興味深い。

温度低下に対してのストレス反応は比較的研究が多い。BALL and SLICHER (1962) や SLICHER et al. (1962) は *Mollienesia latipinna* で25℃の水槽からとり上げ，これを0～1℃の氷水中に移した後の白血球の変動を測定しており，1時間後に急激に減少した後に上昇するという結果を報告している。PICKFORD et al. (1974) も20℃海水へ順化した *Fundulus heteroclitus* を0℃の海水に3分間浸漬するという低温ショックを与えた後の赤血球数と白血球数を測定し，赤血球数はほとんど変動しないが，白血球数は分単位で変動することを報告している。これらの実験は実験条件から考えて，寒冷刺激と魚の取り扱いと空中曝露などの種々な刺激が混合しているようであり温度のみの影響ではないと思われる。しかし，いずれにしても白血球数が短時間内で増減両方向へ大きく変動している点はストレス反応と考えてよいものと思える。しかし，血液性状の中のヘマトクリット値やヘモグロビン量に対して温度低下がどのように影響するかについての報告はない。

PICKFORD et al. (1974) は上記血球数の変動と同時に，2時間後にグルコース量の増加をも報告している。グルコース量に関しては，海産魚でも淡水魚でもストレス反応と極低温順化の場合で増加が認められている点は興味深い。HOUSTON (1962) は20～22℃に順化したキンギョを2.5～3.5℃の温度に急激に移行させた後の血中クロライド濃度を約17時間後まで経時的に追跡して測定し，直線的に減少したと報告している。

本実験結果から血液学的性状の全体の変化を整理すると，温度上昇刺激に対して共通して現われる変化はヘモグロビン量とヘマトクリット値の一過性の増加と，グルコース量やコーチゾール量の増加である。無機塩の変動に関しては個体差が大きいが，大まかにみると増加傾向を示す。他方，温度低下刺激はヘモグロビン量やヘマクリット値を低下させる方向に働く。グルコースと

コーチゾール量に関しては，温度上昇刺激と同様に，増加反応を惹き起こす。無機塩の変動は複雑でこれらの変動は一方向に向かうだけでなく，ドリフトするらしい。これは，温度低下刺激そのものは測定した血中成分を減少させる作用を持っているが，刺激の大きさに対応して起ったストレス反応が血球成分を増加させる方向に働くので結果として血液性状の流動的な変化として現われるためと考えられる。

これらの結果や諸報告から考えると，温度変化刺激は上昇の場合にも下降の場合にも，グルコース量増加とコーチゾール量の一過性の増加の共通の変化を起こしている。しかし，血清中無機塩の変動に関しては解釈はかなり難しい。無機塩類は血液と組織の間を移動し易いし，鰓を介して出入しやすい。また水分についても同様である。血清中無機塩類は濃度の単位で測定されるから，水分の出入は濃度の変動を起こさせる。温度変化が体重の増減を起こすことからも明らかなように，浸透圧調節の変調を起こすことは明らかである（RAFFY 1952）。したがって，温度上昇・下降の刺激はその変化の方向は異なっても血中無機塩の調節を乱す状態を作り出しているという点は共通している。

3)　クラスター分析

これら諸報告にあるそれぞれ単一の特性についての論議とは別に，マダイの生理学的変動を総合的に把握したいという観点から，各実験の時間毎のグループの血液性状の平均値の類似関係を明らかにすることとし，クラスター分析を行った。

変数としては，本実験結果の変化の大きさや上述の諸報告の結果を参考として代謝系の変化指標としてグルコース量を，血球動態の指標としてヘマトクリット値を，浸透圧平衡動態の指標と

Table 4. Euclidean distances between clusters. The cluster number is shown in Tables 2 and 3. Euclidean distance $=(1/10000)\cdot(x_{\alpha i}-x_{\beta i})^2$

Cluster numbar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
2	225																
3	271	10															
4	141	21	23														
5	1476	582	498	709													
6	972	337	264	424	295												
7	1008	424	429	584	720	214											
8	1348	661	738	911	930	677	217										
9	1772	850	866	1121	706	473	170	123									
10	487	264	363	382	1134	741	359	266	626								
11	72	84	92	36	1004	523	628	1045	1288	414							
12	185	71	69	60	848	330	393	818	972	351	32						
13	91	121	147	92	1153	554	530	919	1186	318	23	30					
14	459	189	178	231	821	199	166	610	647	367	196	71	146				
15	614	276	291	369	912	268	70	383	444	261	341	177	244	41			
16	3130	1802	1737	2135	1020	796	643	791	296	1735	2356	1876	2261	1330	1116		
17	1654	1029	987	1181	1311	430	220	760	504	1023	1125	785	969	384	294	646	
18	227	15	35	49	679	329	323	556	752	186	83	47	83	122	176	1695	866

してナトリウム量を用いた。この3変数のうち，グルコース量は経験的に対数正規分布を示すことから（石岡・乾 1980），この値を対数変換し，各変数とも全体の平均値と標準偏差により標準化した値を，有効数字が収まるように整数化した変換値を元データとし，ユークリッド距離を算出した。ユークリッド距離の二乗（$d_{\alpha\beta}^2$）の定義式は次の通りである（奥野・芳賀・久米・吉澤，1972）。

$$d_{\alpha\beta}^2=\sum_{i=1}^{p}(x_{\alpha i}-x_{\beta i})^2$$

n 個の個体の各々について p 種の特性が測定されている時，これを $\{x_{\alpha i}\}$（$\alpha=1,\ 2\cdots\cdots n;\ i=1,\ 2\cdots\cdots p$）とする。$\alpha$ 番の個体と β 番の個体の距離の定義の基本として各変数ごとの

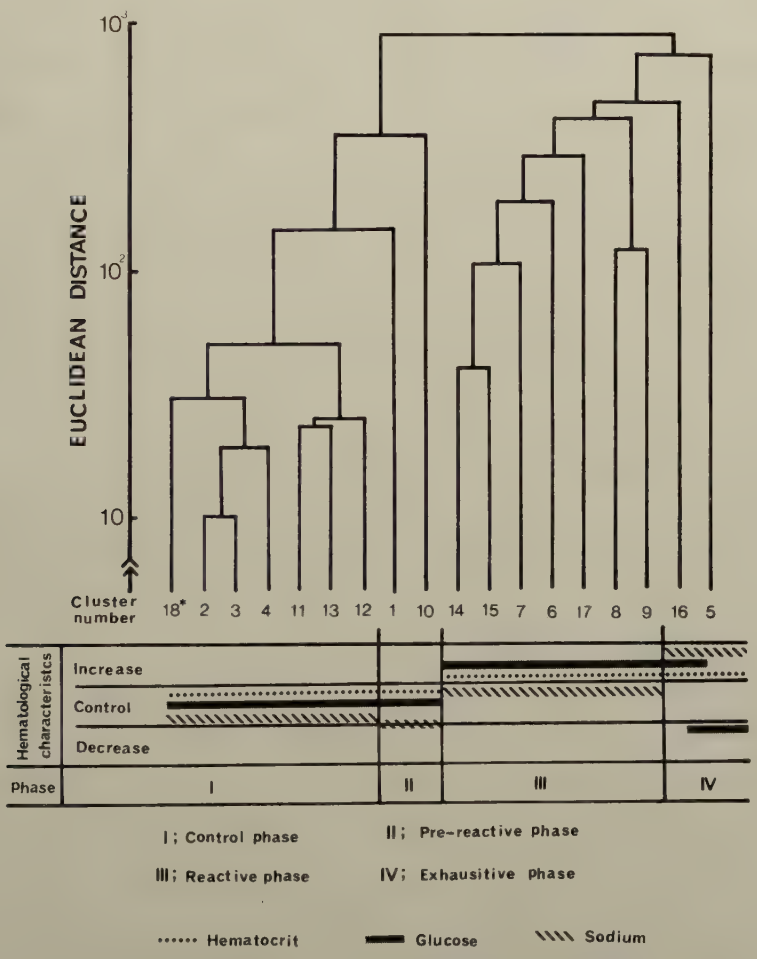


Fig. 6. Differentiation of hematological phases on stress responses of the fish under temperature changes by cluster analysis. Euclidean distance in each cluster was calculated from mean hematocrit value, serum glucose and sodium levels. The cluster number is shown in Tables 2 and 3. *; Cluster number for mean values calculated from controls through all experiments.

差 $x_{\alpha i}-x_{\beta i}$ が考えられる。なお，使用した計算機の記憶容量の関係から，$d_{\alpha\beta}^2$ を1/10,000倍した値を用いて後の計算を行った。

各クラスターの融合は，各クラスターの中点をとる方式を採用した。計算はデスクトップ型コンピューター（YHP30）を用いて行った。結果を Table 4, Fig. 6 に示した。

Fig. 6 に明らかなように，全体は大きく2区分に分かれ，さらにそれぞれを2区分するように分画した。このⅠ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳの相を元データで読みかえると，Ⅰは対照とほとんど差の認められないグループ，Ⅱは対照に近いが，ナトリウム量がやや低い点が共通しているグループ，Ⅲはヘマトクリット値とグルコース量が有意に高く，ナトリウム量もやや高いグループ，Ⅳはナトリウム量が有意に高く，ヘマトクリット値もやや高いグループとなっている。これらから，Ⅰを対照相，Ⅱを前反応相，Ⅲを反応相，Ⅳを疲弊相と仮に名付けた。時間的経過や刺激の強さとの対応でこれらの相をみると，前反応相は典型的なⅢの反応を起こす前の時間帯や回復時にみられ，反応相は刺激が非常に強い場合に典型的にみられ，疲弊相は魚の浸透圧平衡が乱され，外海水の影響を大きく受けている場合と考えられた。また，この疲弊相のクラスターでは斃死魚が出現している場合がある。

このクラスター分析の結果から，温度上昇，下降の急激な変化をストレッサーとした時の血液性状の相を生理学的に無理のない妥当な範囲で大まかに分けることが可能のように思える。そして温度変化刺激によるストレス反応の進行につれてアマダイの血清ナトリウム量は増加の方向が著しくなり，これは海産魚の浸透圧失調状態の典型を示すものと考えられる。これにたいして，グルコース値は一旦上昇した後，疲弊状態に至って逆に低血糖になる点が興味深い。

第3節　塩分変化と血液性状変化

魚が飼育環境の塩分変化にどのように適応しているかは昔から重要な研究課題の1つであった。鰓，腎，消化管等の形態，機能変化（板沢・早川1972，Jozuka 1966, Oguri 1960a, b），イオンの能動輸送（神谷1975，Potts et al 1967），内分泌による適応機構（内田1974）等広い範囲で研究されており，血液性状変化に関する報告も多い。

マダイは日本沿岸海域に広く棲息し，古くから，塩分耐性の強い魚であるとして知られているが生理学的観点からの研究は意外に少ない。

マダイと環境水の塩分との関係に関しての報告はいくつか公表されているが，塩分上昇時の知見はほとんどみられず，塩分低下に対する反応についての諸報告が多い。梶山ら（1928）は最初にマダイの種苗生産を試みた時にすでに比重で1.0220～1.0261の範囲であれば成長速度には差がないと報告し，マダイの塩分耐性能の大きいことを強調している。また Apostolopoulos (1976) もマダイふ化実験で温度と塩分の組合せの影響をみており，水温19～25℃，塩分17～35‰ (sal.) 範囲ではふ化率に異常は認められないとしている。板沢・早川（1972）はマダイの浸透圧調節に関する実験を行い，稀釈海水へ移すと血清浸透圧は一時的に低下するが，数日すると回復し，この経過は腎機能の適応的変化と深い関係を持つとしている。

ここでは環境要因の一つである塩分の変化をストレッサーとして与えた時のマダイの血液性状

に現われる変化の特徴を把握し，そのストレス状態についての解析を行うこととした。

1．実験条件

実験条件の概要は Table 5 に示した。実験Ⅰ，Ⅱは塩分上昇実験であり，実験Ⅲ～Ⅵは塩分低下実験である。Table 5 に示したように塩分上昇刺激を流水系で設定することは困難であったので止水系とし、粗製塩化ナトリウムを実験水槽に直接投入した。酸素補給と攪拌のためエアレーションは十分に行った。しかし実験ⅠとⅡは共に水槽底部には食塩が薄く堆積した状態で実験終了まで経過した。実験Ⅱでは対照区水槽（D，E）に高塩分水が逆流し，塩分がやや上昇した

Table 5. Summary of experiments on the hematological changes in the red sea bream stressed by changes of environmental chlarinity (mean±s.d.).

Experiment number	I	II	III	IV	V	VI
Date of experiment	Oct. 1976	May 1978	July 1976	June 1978	Oct. 1976	July 1975
No. of the fish	10	40	28	40	10	30
Body length(cm)	16.3±0.70	12.0±0.17	14.6±1.19	12.6±1.09	16.6±1.06	14.5±0.54
Body weight(g)	157.3±20.83	54.5±10.82	108.4±23.49	64.2±16.13	166.0±28.10	100.0±20.90
Water flow system	Still	Still	Running	Running	Running	Still
Acclimation period (days)	4	7	30	10	14	0
Temperature(℃)	22	15.5-16.5	20.0-23.5	17.8-19.8	22.5	25.0
Acclimation chlorinity(‰)	16.5	17.5	16.5	17.8	16.5	—
Attained chlorinity(‰)	33.5	39.8	5.06	5.6	0.9	3.33

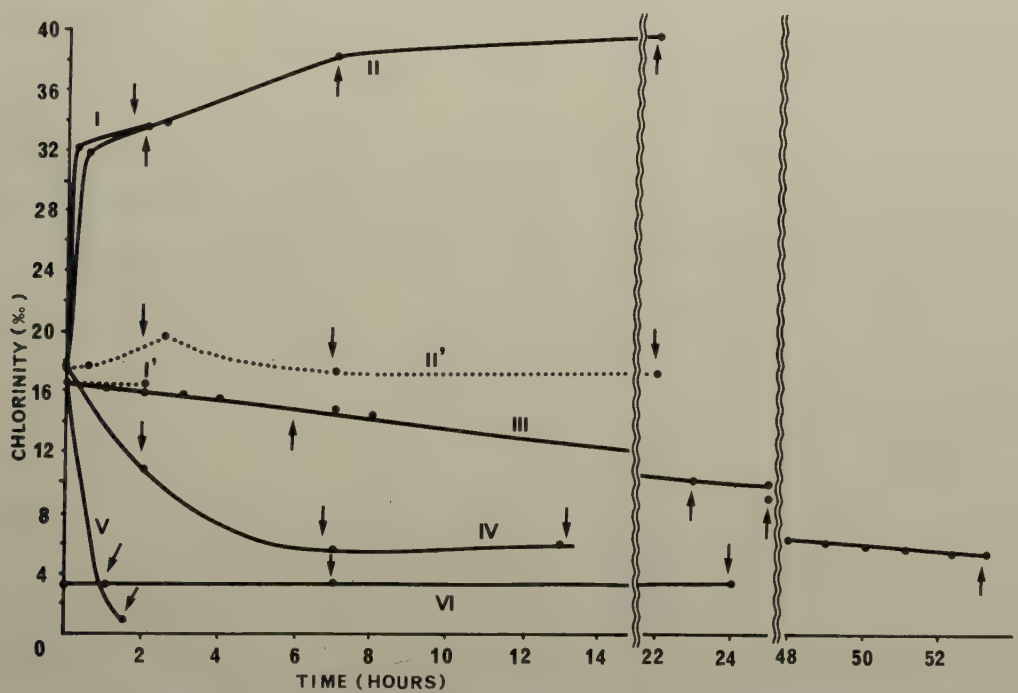


Fig. 7. Changes of water chlorinity during experiments. I–VI; Experiment number. I′ and II′; Controls for experiment number I and II respectively. Arrows; Sampling time.

ので2時間後から約2時間流水系とした。その後塩分が対照値と同じ値になったことを確認した後に止水とした。このため Fig. 7 では特にこの実験の対照区水槽（D，E）の塩分を示した。塩分低下刺激はストレッサー調整水槽（C）に水道水を導入することによって達成したが，急激な条件変化設定の場合には水道水を直接実験水槽に導入した。

塩分変化の状況は水槽内に前もって設置したサイフォン管より経時的に採水し，通常の塩素量検定法により求めた。一方，実験水槽（A，B）内にはサリノメーター（オートラボ，ポータブルS—T計602型）を沈めておき，塩分の変化状況をモニターした。塩分変化の状況は Fig. 7 に示した。

2．実験結果

1）一般的観察

実験Ⅰは急激な塩分上昇変化を与えた時のごく初期の反応をみるための実験として設定した。この時間範囲内では異常行動魚や斃死魚は認められなかった。

実験Ⅱは実験Ⅰと同じ条件で22時間後まで観察した。ここでは10時間以後20時間までの間に4尾が斃死した。

実験Ⅲでは塩分低下は極めてゆるやかに行われ，異常行動魚も斃死魚も全く認められなかった。

実験Ⅳでは塩分低下をより急速に行ったもので，実験開始後30分で水槽上層部を急速に遊泳する異常行動魚が3尾認められ，約5時間後には体色が黒っぽくなり底層でじっとしている個体が数尾観察された。9.5時間後には横転魚が認められ，10時間後には1尾が斃死した。13時間後に残存魚全部をとり上げた。

実験Ⅴではさらに急激な塩分低下の場合の初期の反応をとらえようとしたものであり，異常行動魚や斃死魚は認められなかった。採集した血液は著しく溶血していたので，測定値は溶血の影響を大きくうけていると考えられた。

実験Ⅵは極端に稀釈された飼育水中に置いた魚の状態をみるために設定したもので，順応海水から直接稀釈水中に移した。1時間後には遊泳がやや早い程度であったが，7時間後には斃死魚が出はじめ，明らかな異常遊泳魚が認められた。24時間後に辛うじて生残した個体3尾は横転しており，眼球は，水晶体中心部を除いて白濁していた。

これらの観察から実験Ⅲ以外は塩分の変化速度と最終塩分はマダイにとって致死的な条件であると判断された。

2）血液性状

血液性状変化を Tables 6, 7, Figs. 8～10 に示した。

ヘモグロビン量：塩分上昇を行った実験ⅠとⅡで異なる結果を得た。実験Ⅰでは1.5時間後にヘモグロビン量の有意な減少を実験Ⅱでは2時間後に有意な増加を示した。塩分低下時には，全実験で初期にはヘモグロビン量の変動は認められなかったが，実験Ⅳで13.3時間後に対照区より有意な増加が認められた。ヘモグロビン量は各実験とも個体差が大きく，本実験からは塩分変動とヘモグロビン量の変動の間に一定の傾向を得ることはできなかった。

ヘマトクリット値：Fig. 8 に示したように，塩分上昇時には減少（実験Ⅰ）と一時的な増加

Table 6. Variations of hematological and serum characteristics in the red sea bream under the increase of environmental chlorinity (mean±s.e.). Numbers and symbols are the same as those in Fig. 8.

Experiment	Time (h)	Hemoglobin (g/dl)	Protein (g/dl)	Chloride (mEq)	Potassium (mEq)	Magnesium (mEq)	Calcium (mEq)	Cortisol (ng/ml)	Cluster number
I	0 (Control)	8.5±0.45 (6)	5.32±0.17 (6)	161.1±4.62 (6)	5.01±0.62 (6)	2.05±0.10 (5)	8.97±0.11 (5)	24.6±10.38 (2)	
	1.5	6.9±0.32* (4)	3.71±0.13* (4)	179.0±1.18* (4)	4.02±0.28 (4)	2.09±0.03 (4)	7.61±0.13 (4)	142.5 (1)	1
II	0 (Control)	5.2±0.27 (9)	2.23±0.06 (8)	166.1±2.41 (8)	7.53±0.75 (10)	1.48±0.01 (5)	5.84±0.03 (5)	99.9±42.56 (5)	
	2	6.0±0.27* (10)	2.30±0.05 (10)	182.7±8.35 (10)	8.15±0.87 (8)	1.54±0.06 (7)	6.15±0.15 (7)	7.6±4.97 (5)	2
	7	4.8±0.31 (10)	2.08±0.07 (9)	184.7±3.18* (9)	5.12±0.50* (8)	1.87±0.15 (8)	6.12±0.33 (8)	171.5±20.28 (5)	3
	24	6.2±0.59 (6)	2.14±0.09 (5)	233.7±4.54* (5)	9.29±1.43 (6)	3.28±0.40* (3)	5.97±0.13 (3)	444.5±17.53* (3)	4

*; Significantly different from control values ($p \leq 0.05$).

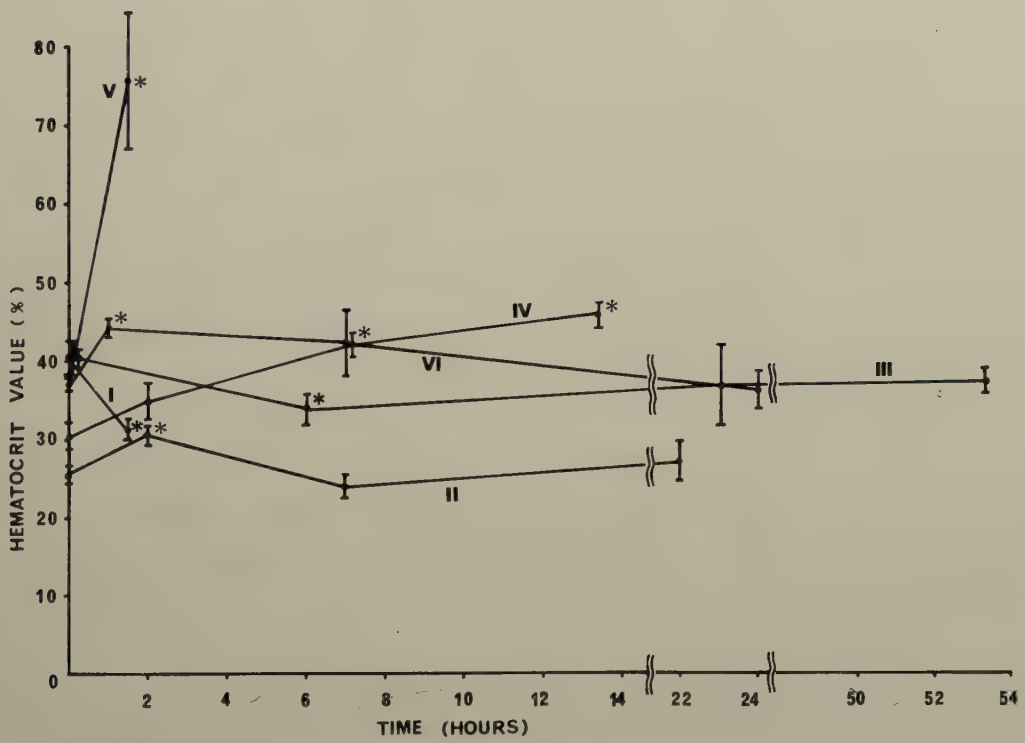


Fig. 8. Variations of hematocrit values in the red sea bream stressed by changes of chlorinity (mean±s.e.). Ⅰ-Ⅵ; Experiment number. *; significantly different from O-hour control values ($p \leq 0.05$).

Table 7. Variations of hematological and serum characteristics in the red sea bream under the decrease of environmental chlorinity (mean±s.e.). Numbers and symbols are the same as those in Fig. 8.

Experiment Time(h)	Hemoglobin (g/dl)	Protein (g/dl)	Chloride (mEq)	Potassium (mEq)	Magnesium (mEq)	Calcium (mEq)	Cortisol (ng/ml)	Cluster number
III 0 (Control)	8.1±0.25 (7)	4.36±0.19 (7)	168.3±2.46 (7)	5.33±0.85 (7)	1.63±0.10 (6)	8.20±0.16 (6)	76.5″ (1)	
6	7.7±0.17 (5)	4.16±0.17 (5)	167.2±2.93 (5)	3.60±0.45 (5)	1.80±0.03 (5)	3.47±0.34 (5)	39.0″ (1)	5
23	8.9±0.67 (4)	5.15±0.26* (5)	161.4±2.38 (5)	4.82±0.57 (5)	1.31±0.02 (5)	3.44±0.36 (5)	61.0″ (1)	6
30	7.9±0.34 (4)	4.10±0.14 (5)	171.5±1.03 (3)	5.41±0.55 (5)	1.76±0.15 (3)	8.97±0.09* (3)	—	7
53.3	8.3±0.47 (4)	4.89±0.24 (5)	142.5±3.29* (5)	4.97±1.03 (4)	1.76±0.11 (3)	9.03±0.32* (3)	32.0″ (1)	8
IV 0 (Control)	6.0±0.45 (11)	2.46±0.08 (10)	164.5±2.07 (12)	6.38±0.66 (11)	1.49±0.03 (7)	5.88±0.12 (7)	6.5±2.69 (6)	
2	6.9±0.33 (9)	2.82±0.14* (8)	154.1±3.90* (9)	8.37±0.47* (8)	1.56±0.04 (4)	5.79±0.26 (4)	223.9±94.72* (5)	9
7	6.9±0.40 (8)	3.11±0.14* (5)	147.5±5.85* (8)	9.80±0.36* (4)	3.22±0.43* (2)	5.99±0.19 (2)	196.6±55.70* (5)	10
13.3	7.2±0.30* (9)	3.90±0.41* (5)	136.2±10.29* (9)	8.67±0.36* (5)	7.87±0.83* (2)	7.98±0.69* (2)	245.5±160.57 (4)	11
V 0 (Control)	8.5±0.45 (6)	5.32±0.17 (6)	161.1±4.62 (6)	5.01±0.62 (6)	2.05±0.10 (5)	8.97±0.11 (5)	24.6±10.38 (2)	
1.5	9.5±0.33 (5)	14.16±0.49* (5)	114.2±3.10* (5)	7.71″ (1)	5.52″ (1)	14.83″ (1)	197.5″ (1)	12
VI 0 (Control)	7.9±0.16 (5)	4.36±0.19 (5)	169.3±2.59 (5)	8.24±0.95 (5)				
1	7.9±0.12 (10)	4.9 ±0.13* (10)	150.3±1.12* (10)	5.25±0.32* (10)				13
7	8.3±0.54 (3)	4.27±0.05 (2)	111.7±0.90* (2)	3.92 (1)				14
24	7.5±0.15 (3)	3.83±0.15 (3)	86.1±2.19* (3)	5.40±0.56 (3)				

*; Significantly different from control values ($p \leqq 0.05$).
″; Serum was analyzed in a lump.

（実験Ⅱ）が認められ，ここでも両実験の結果は一致しなかった。塩分低下時には実験Ⅲを除いて，すべて一時的な上昇が認められた。すなわち，実験Ⅲのようにゆるやかな塩分低下時にはヘマトクリット値はわずかに低下する時期はあるが，全体的にみてほとんど変動がない状態である。しかし，実験Ⅳ，Ⅴ，Ⅵのように急激な塩分変化時にはヘマトクリット値の有意な増加が認められた。

蛋白質量：塩分上昇時は，実験Ⅰでは蛋白質量の減少が認められたが，実験Ⅱでは有意な変動は認められなかった（Table 6）。塩分低下の場合（Table 7）には，対照値は4実験で異なっていたが，増加の傾向が認められた。特に実験Ⅳは非常に低い蛋白質量を示す魚群であったが，実験Ⅲ，Ⅴ，Ⅵと同様に一時的な増加傾向が認められた。実験Ⅴの14.2g/100mlという値は明らかに異常であり，溶血の影響と考えられた。

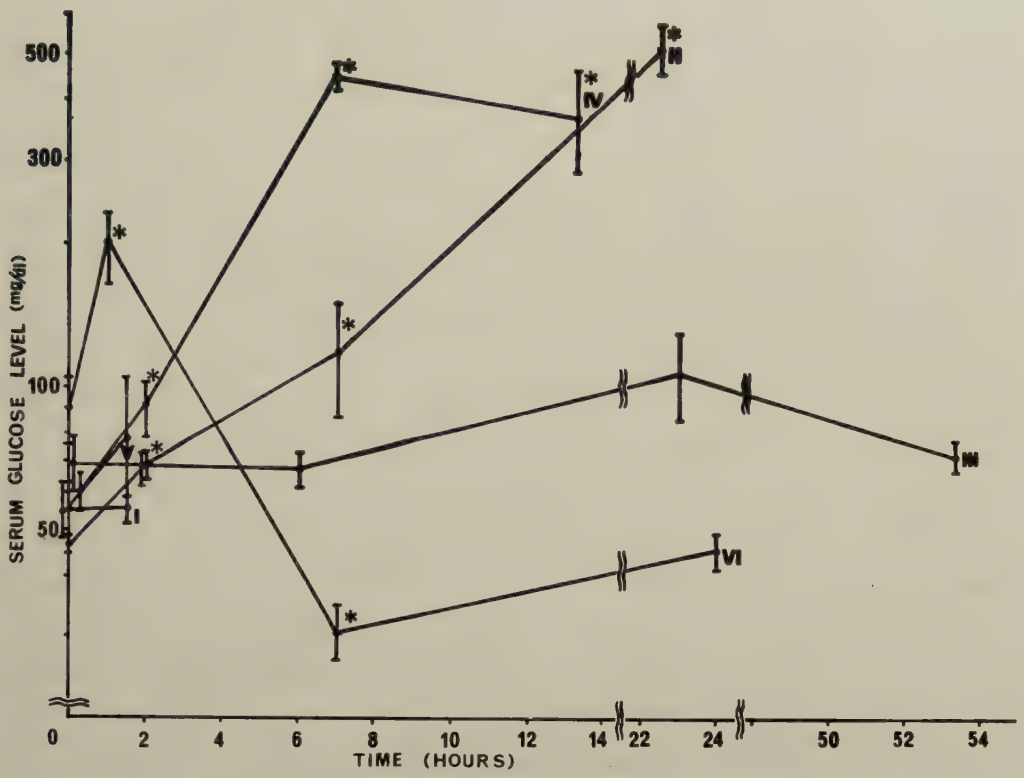


Fig. 9. Variations of serum glucose levels in the red sea bream stressed by changes of chlorinity (mean±s.e.). Ⅰ-Ⅵ; Experiment number.
*; Significantly different from O-hour control value ($p \leqq 0.05$).

グルコース量：塩分の上昇と下降時にはいずれもグルコース量の増加が認められた。(Fig. 9)。実験Ⅰの1.5時間までの時間範囲ではグルコース量の増加は認められていないが，実験Ⅱでは2時間以降次第に増加する傾向が認められた。実験Ⅲでは塩分低下速度が小さくグルコース量の個体差も大きいので，有意な増加は認められなかった。実験Ⅴの1.5時間までの時間範囲では増加は認められなかった。実験Ⅵでは1時間後のグルコース量の有意な増加の後，7時間目に有意な減少を示した。

クロライド量：この成分は塩分上昇時には増加の傾向を示した。しかし急激な塩分上昇の場合でも最初はあまり高い値を示さず，斃死魚が出る時期になると高い値を示した。塩分低下時には明らかにクロライド量は減少の傾向を示した。塩分低下速度が急激な場合（実験Ⅴ，Ⅵ）にはクロライド量は減少したが，速度がゆるやかな場合（実験Ⅲ，Ⅵ）には減少も軽度であった。

ナトリウム量：塩分上昇時には増加を示し，塩分低下時には減少が認められ，変動傾向はクロライド量の変動と並行していた（Fig. 10)。

カリウム量：塩分上昇の場合には（Table 6)，実験Ⅱで7時間後に一時的な有意なカリウム量の減少が認められた。塩分低下時には（Table 7）実験Ⅲでは有意差を生じるような変動は認められなかったが，これは塩分低下速度が小さい実験であったためとみられる。実験Ⅳではカリウ

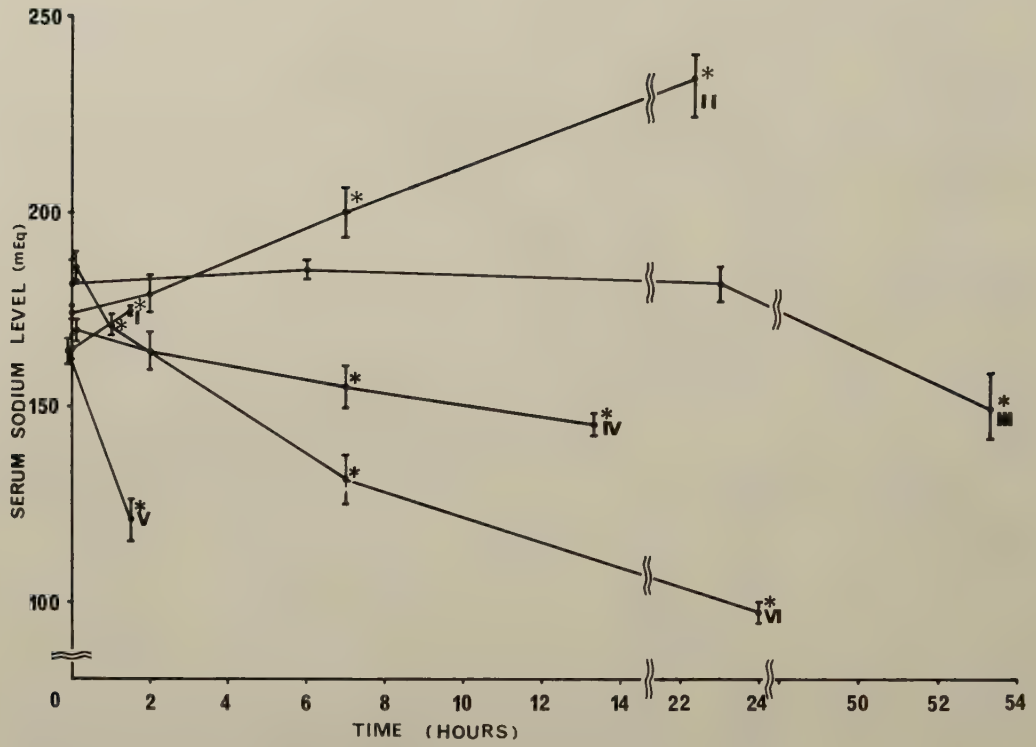


Fig. 10. Variations of serum sodium levels in the red sea bream stressed by the environmental chlorinity changes (mean±s. e.).
Ⅰ-Ⅵ; Experiment number　*; Significantly different from O-hour control value ($p \leq 0.05$).

ム量の増加が，実験Ⅵでは減少が認められた。この成分の変動傾向ははっきりしなかった。

マグネシウム量とカルシウム量：塩分上昇時にはマグネシウム量は実験Ⅱの22時間後の斃死魚がみられた時点で増加が認められただけであった。カルシウム量には有意な変化はみられなかった。

塩分低下時には，実験Ⅲではマグネシウム量の変化はないが，カルシウム量は30時間以後に増加を示した。これが塩分変化によるのかどうかは解らない。実験Ⅳではマグネシウム量の有意な増加が認められ，この実験ではカルシウム量も増加している時期がある。2価イオンの変動は塩分変動に鋭敏に反応するようにはみえず，その動態は塩分変動に伴なう変動とは考えにくい。

コーチゾール量：塩分上昇時にはコーチゾール量は増加した。実験Ⅰでは1.5時間後には1尾しか測定できなかったが対照値の6倍の値を示した。実験Ⅱでは7時間後には同じく2倍に増加し24時間後には4.5倍に達した。塩分低下時（Table 7）にはゆるやかな塩分低下の時以外は，顕著に高い値を示した。コーチゾール量は対照区の値の変動が大きいが，それにもかかわらず同じような増加傾向を示した。

3．考　察

海産魚でも淡水魚でも，環境水の塩分変化に伴なう生理学的性状の変動についての研究は比較

的多い。

飼育水の塩分上昇による魚の生理学的変動の研究は主に淡水魚や溯河性および降海性魚類で行われており，海産魚を対象にした研究はほとんどない。飼育水の塩分低下の影響については主に海産魚で研究されている。

1) 塩分上昇の影響

飼育水の塩分上昇に伴なう魚の反応は，飲水量，血液学的諸性状の変動，鰓，腎，腸等の組織学的諸性状の変化，各種組織の酵素活性の変化など，種々な面で研究されており，その主たる研究目的は外部環境の塩分変動に対して内部環境を一定に保とうとする浸透圧調節機能の解明にあった。

血液性状に関しては1950年代に竹村（1950）が電位差計を試作し，淡水魚のドジョウやコイやフナを数%の食塩水中に入れた時の組織液や血液のクロライド量を測定し，実験開始後数時間は次第に増加したと報告している。STANLEY and FLEMING (1965) は *Fundulus kansae* を海水に移した後の血中ナトリウム量を測定し，海水移行後数時間は血中ナトリウム量は増加し数日後に始めの値にもどるとしている。OIDE and UTIDA (1967) は日本ウナギを淡水から海水に移した後の血中ナトリウム量は次第に増加し，その後淡水値へ復することを述べている。CHAN et al. (1967) はウナギを海水に適応させて4～5週間後の血中無機塩を定量し，ナトリウムとカリウム量の有意な増加を報告している。BALL et al. (1971) は淡水順化した *Anguilla anguilla* を海水に移した後の体重の減少，ヘマトクリット値の増加，血中ナトリウム量，血中クロライド量，血中コーチゾール量の増加を報告しているが，この海水移行の影響はどの測定項目も2日後に最大の変動を示した。HIRANO and UTIDA (1971) は淡水順化した日本ウナギについて血中コーチゾール量と腸よりの水分吸収を測定し，海水移行後は血中コーチゾール量は増加し2時間後にピークに達し24～48時間後には始めの値に復するとしている。SINGLEY and CHAVIN (1975) はキンギョで血中コーチゾール量を測定しており，飼育水に食塩結晶を加え0.09%にした時コーチゾール濃度は秒，分の単位で増加したとしている。FORREST et al. (1973) はアメリカウナギを海水に移すと，コーチゾール量は増加し2日後にはピークに達し数日後始めの値に復し，血中ナトリウム量は移行後数日間は増加しているとしている。また，HAYWOOD (1975) は striped dogfish, *Paroderma africanum*, で鰓を通してのナトリウム，クロライド，水の交換に関する研究を行い，外部環境水の浸透圧を上昇させた時，ヘマトクリット値は数日間にわたる増加時期があって10日目頃には始めの値に復するという結果を報告している。粟倉（1964）はコイを稀釈海水に移行して24時間後に測定した実験ではヘマトクリット値，ヘモグロビン量の増加を，またニジマスを稀釈海水に移行した後では血清中ナトリウム量の一過性増加を報告している。DAVIS and SIMCO (1976) は淡水魚 *Ictalurus punctatus* を食塩水へ移した後の血中無機塩量を定量し，ナトリウムとクロライド量の日単位で起こる一時的増加を報告している。また，最近，OGURI and OOSHIMA (1977) は淡水魚ニジマスとキンギョを海水移行させその後60分までの血漿電解質（ナトリウム，クロライド）の変化を観察し，その急激な増加を記録している。MACEINA (1980) は淡水性 grass carp (*Ctenopharyngodon idella val.*) の飼育水に食塩を加え，塩分を10.9‰ (sal.)

まであげると10日後にも血漿ナトリウム，クロライド量は増加していたと報告している。さらに，BATH and EDDY (1979) と EDDY and BATH (1979) はニジマスを⅓，⅔海水へ移行した後の血漿，筋肉の細胞内，外のイオン（Na^+, Cl^-, K^+）を測定・計算し，移行後数日間の血漿，筋肉のイオンの一過性増加を報告し，特に塩素イオンの処理にエネルギーを消費しているとしている。

これら諸報告はすべて淡水魚と淡水順応魚における実験結果であるが，魚種の違い，塩分変化後のサンプリング時間，温度，取り扱い等設定条件の差があるにもかかわらずよく一致している。すなわち，ヘマトクリット値は時間，日の単位での一過性の増加が認められており，血中ナトリウム量やクロライド量は実験開始後すぐ増加しはじめ，やがて数日後にもとの値かあるいはそれよりやや高い値で安定する。コーチゾールに関しては秒，分，時間，日の単位での一過性の上昇が認められている。しかし，これらの報告は主に塩分上昇の影響をストレス反応としてとらえるより，塩分耐性や塩分順応の影響を把握するという点に焦点があてられている。これらの反応は，基本的には本実験においても認められているが，ヘマトクリット値の変動が実験条件によって異なることや，コーチゾールの初期の上昇が認められなかった点等細部では相違がみられる。

2) 塩分低下の影響

環境水の塩分を下降させた時の魚の生理学的反応に関しては主に海産魚や海水順化した淡水魚での研究が多い。マダイでは板沢・早川 (1972) らが稀釈海水中における血清浸透圧の変化，腎機能の変化を観察している。その結果，稀釈海水に移した後3日間は血清浸透圧が低下しその後回復するが，その回復までの経過は腎機能の適応と深い関係があるとしている。山下 (1967) はカサゴで人為的に環境水の塩素量を低下させた時には，血液比重は環境水の低下条件に対応して減少すると報告している。HANE et al. (1966) は pacific salmon や steelhead trout で，取り扱いや反復採血等の影響が血漿17-OHCS 量の増加として現われ，特に河川回帰初期の魚で著しかったと報告している。CHAN et al. (1967) はウナギを蒸溜水で飼育すると数週間後には血中ナトリウム量の明らかな減少と血中カリウム量の増加が起ったとしている。PARRY et al. (1961) は pacific salmon を海水から淡水に移行すると血液浸透圧は低下するとしている。FAGERLUND (1967) は sockeye salmon でストレッサーと血漿コーチゾール量の関係を研究し，魚の回遊の過程で河川に入った初期には血中コーチゾール量の増加は認められないが，瀕死状態に近づくと急激に増加するとしている。また，平野 (1969) は2か月間海水に順応させた日本ウナギを淡水に移した後2時間の試料では，血中コーチゾール量の増加はみられなかったとしている。BALL et al. (1971) は海水に適応したウナギを淡水に移した時の血中ナトリウム量とコーチゾール量を測定しており，どちらの成分に関しても数日間後の調査で変動が認められなかったとしている。NISHIMURA et al. (1976) は，海産魚 *Opsanus tau* を淡水で稀釈した海水に移し4週間後に採血しレニン活性，アンジオテンシン活性，ナトリウム量，コーチゾール量，ヘマトクリット値を測定し，血中ナトリウム量減少は認めたもののコーチゾール量，ヘマトクリット値の変化は認められなかったという。HENDERSON et al. (1976) もウナギの内分泌機能に関する研究の中で，海水順応した魚の環境水の塩分を低下させると血中ナトリウム量は減少するがコーチゾール量には変化がないとしている。HAYWOOD (1975) は先に述べた striped dog fish による

鰓を通してのイオン交換に関する実験で，環境水の浸透圧を低下させるとヘマトクリット値が減少するとしている。

これら外部環境水の塩分を低下させた時の反応は，その主たる目的を浸透圧調整機能解明においているため，とりあげている血液成分項目には偏りがみられ，血中ナトリウム量，コーチゾール量，血液比重，浸透圧，ヘマトクリット値等のデータが多い。これらの諸報告に共通した事実は，海産魚あるいは海水に適応させた淡水魚を淡水に移行した後は血漿ナトリウム量は減少し，適応が完了した場合でもその値は海水値よりやや低い所で安定することである。

最近報告の多いコーチゾール量に関しては，淡水に移行して1日以上経過した後の測定値は対照値と差が認められないというものが多い。本実験でも実験Ⅲの塩分低下がゆるやかな場合にはこの値の増加は認められていないが，実験ⅣとⅤのように斃死魚がみられるような塩分の急激な低下条件では増加しており，これは FAGERLUND (1967) のいう moribund (瀕死) 状態と同じ現象であろう。

ヘマトクリット値に関しては日の単位で低下するという報告と変化しないという報告がみられるのみで，これを今回の初期の反応の結果と比較するのは困難である。ヘマトクリット値増加の原因は貯蔵赤血球の放出，血液の濃縮，赤血球の膨潤等が考えられるが，実験Ⅳ，Ⅴ，Ⅵにみられるヘマトクリット値増加時には，ヘモグロビン量のヘマトクリット値に対する比率 (MCHC) が極端に低下していること，実験Ⅴでは著しい溶血が認められたこと等からヘマトクリット値増加は赤血球の膨潤によるのではないかと考えられる。また，このヘマトクリット値の増加は，血清ナトリウム量の減少やコーチゾール量の増加と同時に起こっている点などからも，浸透圧調整機能が乱された時の特徴と考えることも出来る。

本実験は環境水の塩分変化によって，どのようにマダイの生理学的恒常性が乱され，どのよう

Table 8. Euclidean distances between clusters. The cluster number is shown in Tables 6 and 7.

Cluster Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2	10														
3	190	118													
4	1116	918	448												
5	354	301	415	755											
6	315	416	968	2388	652										
7	588	690	1260	2759	880	154									
8	1730	1821	2589	3540	1097	953	1236								
9	21	11	138	899	269	423	767	1696							
10	93	60	158	720	99	492	785	1469	44						
11	19	15	175	995	236	327	532	1608	33	51					
12	92	114	404	1345	222	160	298	1173	130	117	51				
13	55	47	223	985	154	312	497	1402	58	36	11	30			
14	746	655	684	784	124	1080	1096	1385	658	378	534	492	409		
15	769	703	839	1063	129	927	932	1060	698	409	557	448	416	26	
16	16	24	229	1088	241	276	566	1443	18	50	18	57	28	613	615

な変化として把握することが出来るかという観点で行ったものである。第2節（石岡 1980a）の温度変化の場合と異なり，塩分変化によるマダイの血液性状変化には血中ナトリウム量，クロライド量の変動のように特有のストレッサー対応変化がはっきりと認められる。塩分上昇時と下降時に共通にみられる反応はグルコース量とコーチゾール量の変動のみであった。また，この共通の反応は刺激の絶対値（塩分差）そのものと同時にその変化速度によって影響されるようである。

3)　クラスター分析

第2節に述べたのと同様に本節実験結果についても3種類の血液性状の組み合わせによってクラスター分析を行った。変数の元データは，Tables 6, 7, Figs 8, 9, 10に示した各実験のサン

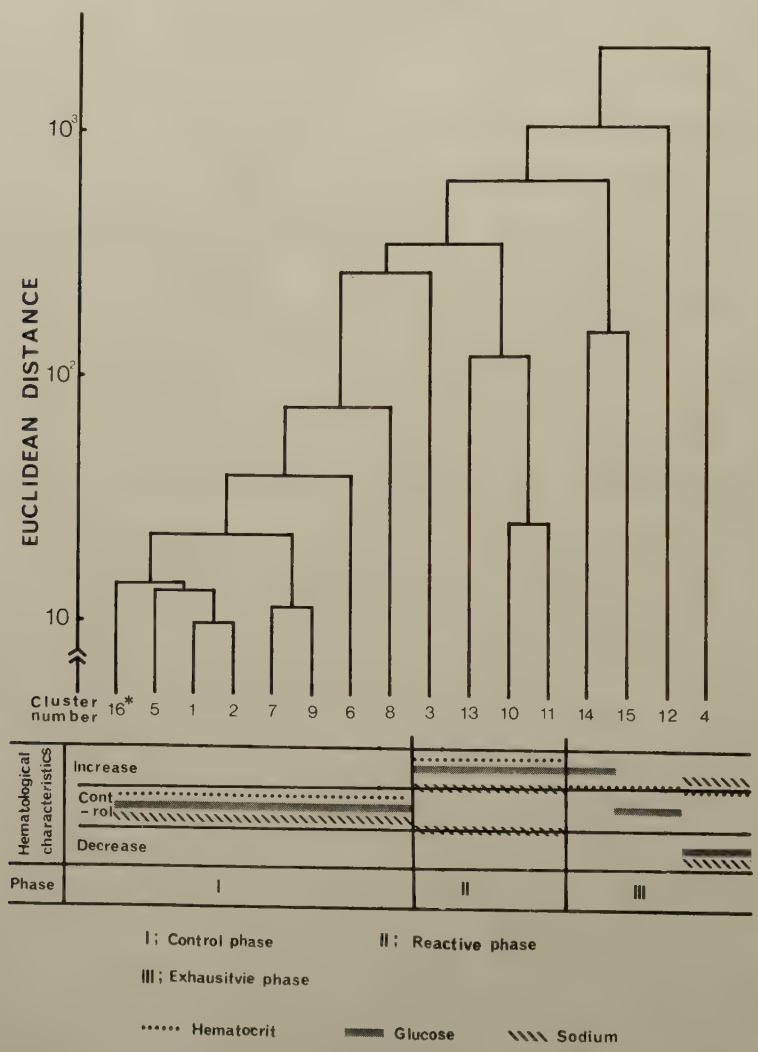


Fig. 11. Differentiations of hematological phases on stress responses in the red sea bream under environmental chlorinity changes by cluster analysis. *; Cluster number for mean values calculated from controls through all experiments.

プリング時間毎の平均値を整数化し，グルコースは対数変換した値を用いた。この結果を Table 8, Fig. 11に示した。このクラスター分析結果のみからグループを分類することは難しいが，斃死魚出現状況や，第2節のクラスター分析時に基準として用いたユークリット距離やそれぞれのグループの3変数の平均値の特性を総合的に考えて大別してみると，Ⅰ，Ⅱ，Ⅲの3グループとして考えることができる。Ⅰは対照群を含み，3変数が対照値から大きくはずれないグループ，Ⅱはグルコース値が有意に増加し，環境水の影響がヘマトクリット値，ナトリウム値にわずかに現われているグループ，Ⅲは斃死魚が認められたグループで，ナトリウム値が対照値から大きくはずれており，グルコース値も極端に高い値から低い値にまで分布しているグループである。第2節にならい，それぞれのグループは対照相，反応相，疲弊相と考えることができる。対照相では鰓，消化管を通じて浸透圧変化に由来する反応が起こり始める初期の反応や，塩分変化速度があまり大きくないために浸透圧調節が十分に機能している状態のグループが含まれている。反応相は負荷がさらに大きくなり，負荷を中和する機能を持つ組織器官へ速やかにエネルギー補充をしなければならないため，グルコースの血中への遊離が著しく増強された反応を示すグループが入る。疲弊相は負荷が大きすぎるために浸透圧調節機能を失調し外界水塩分変動の影響を強くうけて斃死に至る前の状態にあるグループと考えることができる。

この各相の考え方も各相の血液性状も，温度変化をストレッサーとした場合と基本的には同一である。但し，塩分変動というストレッサーはストレス反応としての浸透圧変化を起こすと同時にストレッサー特有の作用としても同じ効果を示すものであるため，血液性状にみられる変化も浸透圧に関与するものが強く現われる。

第4節　環境水酸素分圧低下と血液性状変化

魚をとりまく環境要因のうち，溶存酸素量は魚の生存にかかわる基本的要因の一つである。しかし，この溶存酸素は常に安定した状態に維持されているものではない。特に限られた水量内での飼育時には，魚の密度，温度，餌料や排泄物の影響，プランクトン量などの条件で大きく変化することはよく知られている。飼育水の酸素欠乏の魚に対する影響に関しての研究は古くから行われ，魚の呼吸数，行動，血液性状等の報告は多く，魚の低酸素状態への適応機構解明の研究が行われている。生理学的あるいは生化学的実験に際しては，捕獲，輸送，取り扱い，空中露出の処理が行われるが，この時魚を酸素欠乏状態に追い込まざるを得ないことが多いので，窒息の生理については一層の理解を深めることが必要である。

本節では，低酸素状態に対して比較的，耐性があるとみられているマダイについて，溶存酸素量の低下をストレッサーとした時に血液性状に現われるストレス反応を観察するために行った実験の結果を報告する。

1．実験条件

マダイは1976年にふ化し養殖された1年魚を種苗生産業者より購入して用いた。実験開始までの飼育方法や実験系は前述の通りである。実験魚の尾又長，体重（平均値±標準偏差）はそれぞれ12.4±1.01cm，61.8±13.85gであった。

溶存酸素量減少速度を変えた時にみられる共通な反応をみるために4種類の実験を行った。この実験の詳細はTable 9に示した。溶存酸素量を変えるのには窒素ガスを海水中に吹き込む方法を用い，前述のストレッサー調整水槽（C）に窒素ガスを吹き込んで低酸素海水を作製し，これをサイフォンで実験水槽（A，B）へ移した。実験水槽水の撹拌は魚の遊泳によるものにまかせ，特別な装置は用いなかった。実験Ⅰの場合のように急激に溶存酸素量を変える時は，バルブの切り換えによりエアレーションパイプを通して直接窒素ガスを実験水槽中へ吹き込んだ。

Table 9. Summary of the experimental conditions in the study of the stress responses induced by ambient oxygen reduction on the red sea bream.
Fork length; 12.4±1.01cm. Body weight; 61.8±13.85g (mean±s.d.).

Experiment	I	II	III	IV
Date of experiment	July 7	June 30	June 24	July 12
No. of the fish	20	25	25	25
Acclimation period (days)	5	5	5	5
Water flow system	Still*	Running*	Running	Running*
Temperature during the experiment (℃)	21.1	19.1-21.0	18.3-18.8	20.7-23.6
Initial acclimation oxygen level (ml/l)	4.64±0.43	4.86±0.03	5.17±0.02	4.67±0.40
Attained oxygen level (ml/l)	0.91±0.06	1.31±0.06	2.89±0.01	2.98±0.01

*; The surface of the experimental trough was closely covered with polyethylene film to prevent the oxygen diffusion from the surrounding air.

溶存酸素量の測定は水槽内に固定したサイフォン管より10分毎に採水し，ウインクラー法により行った。予備実験で水槽内の溶存酸素量の低下の状況をみるために水槽内の17点に固定したサイフォン管より採水し，溶存酸素量を測定した。その結果，採水位置による溶存酸素量には有意

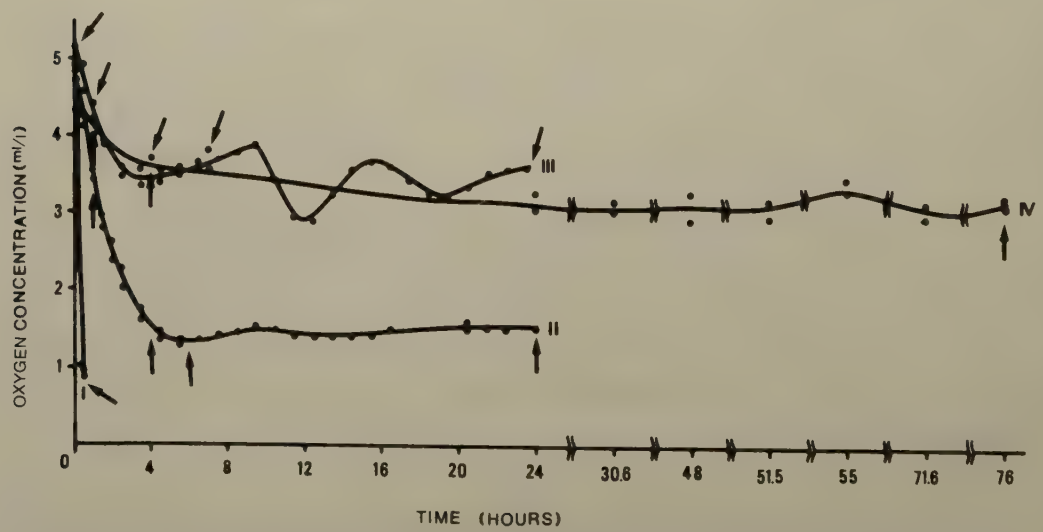


Fig. 12. Changes of water oxygen levels in the experiment on the stress responses of the red sea bream to water oxygen level reduction. Ⅰ-Ⅳ; Experiment number. Arrows; Sampling time.

差は認められなかった。なお，実験Ⅱ，Ⅲ，Ⅳの場合には，水槽底部に溶存酸素計（EIL 1510型）の受感部を沈めモニターしながら実験した。Fig. 12 に4実験の溶存酸素量の経時的変化を示した。

実験の経過に従って適当な時間間隔でマダイをサンプリングした。

2. 実験結果

1) 一般的観察

実験Ⅰは30分間で溶存酸素量が 4.64ml/l から 0.91ml/l へと急激に低下（Fig. 12）し，実験開始後15分すると異常行動魚が認められた。魚は激しく遊泳し，鼻上げ行動が観察された。実験開始後30分にもこの状態がつづいた。この時に全尾数を取り上げ採血したので斃死魚はなかった。

実験Ⅱでは4時間で1.31ml/l まで溶存酸素量を低下させたが，4時間までは異常行動魚は観察されなかった。5時間目には異常遊泳魚が2尾と横転魚が3尾認められた。6時間後にはほとんどの個体が水槽底で静止し動かなくなり，10時間後には体色が白っぽくなった魚が水槽全体をゆっくりと泳ぎまわる状態にあるのが観察された。この実験でも斃死魚はなかった。

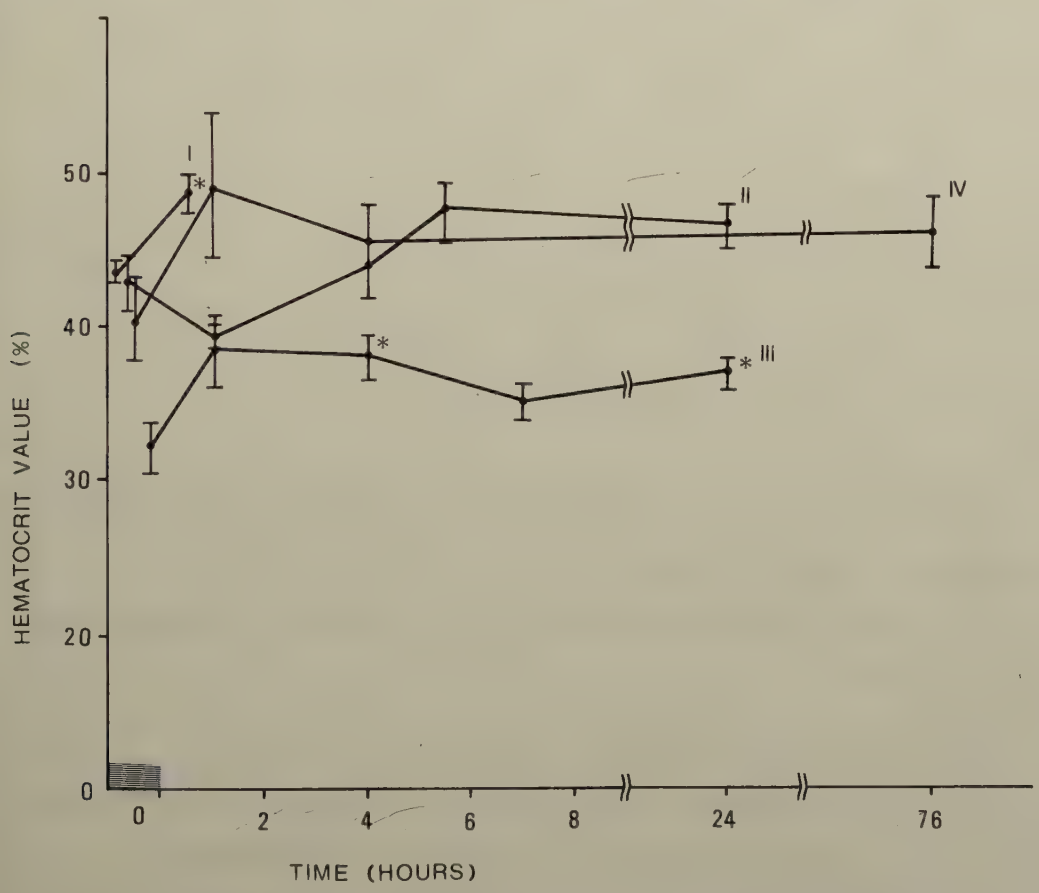


Fig. 13. Changes of hematocrit value in the red sea bream stressed by changes of water oxygen level (mean±s.e.). Ⅰ-Ⅳ; Experiment number. *; Significantly different from O-hour control level ($p \leq 0.05$).

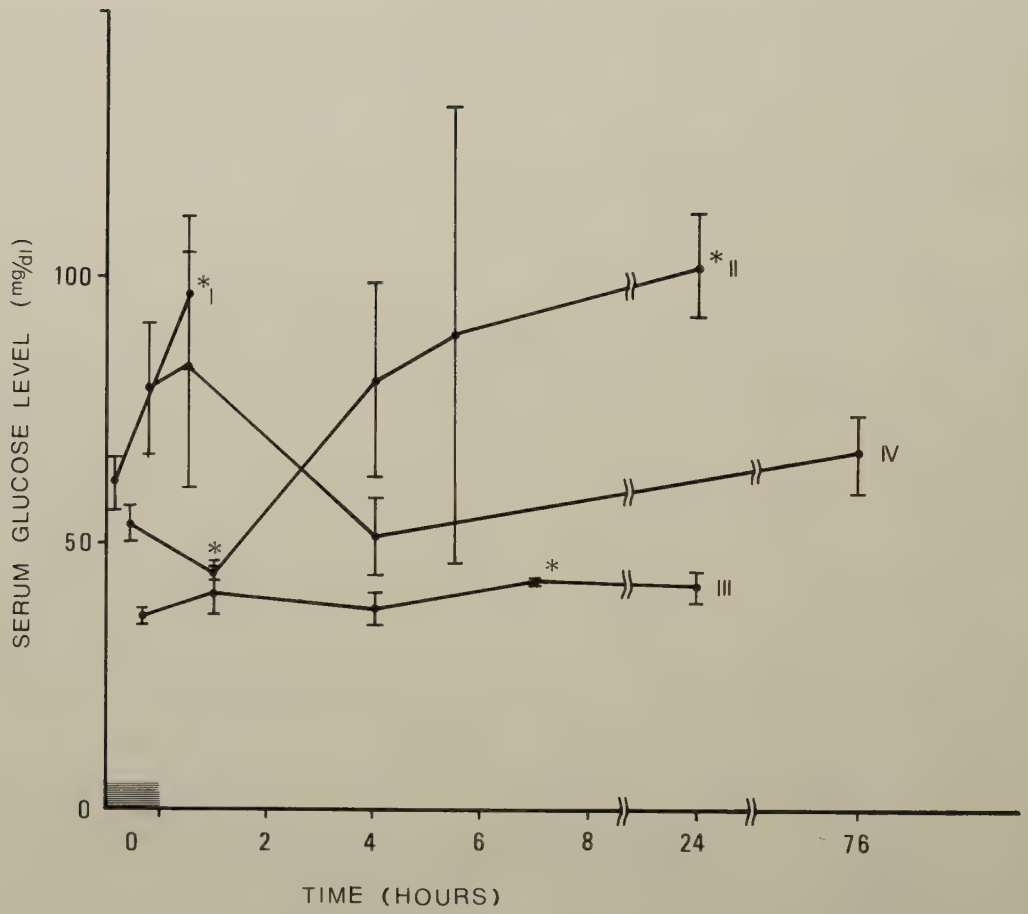


Fig. 14. Variations of serum glucose levels in the red sea bream stressed by changes of water oxygen level (mean±s.e.). Ⅰ-Ⅳ; Experiment number. *; Significantly different from O-hour control value ($p \leqq 0.05$).

実験Ⅲでは12時間で 2.89ml/l まで溶存酸素量を低下させたもので 特に全体的な行動異常は認められなかったが，実験開始後 4 時間目に表層を泳ぎまわる個体 1 尾と21.5時期後に鼻上げ症状を示す個体 1 尾が観察された。斃死魚はなかった。

実験Ⅳではゆっくりと溶存酸素量を 2.98ml/l まで低下させたもので，行動異常魚も斃死魚も全く認められなかった。

2) 血液性状

これらの実験より得られた血液性状の変化は **Fig. 13, Fig. 14, Table 10** に示した。

ヘモグロビン量：溶存酸素量の減少ではマダイのヘモグロビン量を増加させる傾向が認められたが，平均値での有意差が認められたのは実験ⅡとⅣであり，それも 5.5時間以後であり，ヘモグロビン量増加の経過は緩慢であった。

ヘマトクリット値：この成分も増加傾向が認められたが，平均値で有意差を生じたのは実験Ⅰと実験Ⅲであった。

Table 10. Variations of hematological and serum characteristics in the red sea bream stressed by changes of water oxygen level. (mean±s.e. with number of the fish in the parenthesis.)

Experiment	Time (h)	Hemoglooin (g/dl)	Protein (g/dl)	Chloride (mEq)	Sodium (mEq)	Cortisol (ng/ml)	Cluster number
I	0 (control)	6.7±0.15 (10)	3.47±0.11 (10)	168.2±1.80 (10)	177.1±2.37 (10)	24.2±5.35 (10)	
	0.5	7.0±0.23 (9)	3.40±0.13 (9)	176.6±2.37* (9)	178.8±1.62 (9)	91.3±20.55* (9)	2
II	0 (control)	6.4±0.22 (4)	3.19±0.26 (4)	164.8±2.19 (4)	170.6±3.06 (4)	8.8±0.85 (4)	
	1	6.0±0.10 (5)	2.67±0.08 (5)	161.9±0.50 (5)	166.6±0.33 (5)	19.9±7.19 (5)	3
	4	6.7±0.34 (5)	3.34±0.10 (5)	169.2±2.82 (5)	172.0±3.08 (5)	140.8±29.69* (5)	4
	5.5	7.3±0.22* (5)	3.42±0.09 (3)	174.1±3.11 (5)	182.3±2.89* (5)	62.6±23.13 (5)	5
	24	7.3±0.06* (5)	2.54±0.07* (5)	163.6±1.76 (5)	165.4±1.70 (5)	92.3±12.74* (5)	6
III	0 (control)	5.2±0.42 (5)	2.73±0.05 (5)	157.9±0.81 (5)	164.6±3.13 (5)	—	
	1	6.1±0.47 (4)	2.75±0.11 (4)	160.7±0* (4)	166.1±1.96 (4)	—	10
	4	5.8±0.41 (5)	2.78±0.09 (5)	160.2±1.34 (5)	162.6±0.79 (5)	—	11
	7	5.6±0.55 (5)	2.78±0.21 (5)	159.5±1.88 (5)	166.3±1.86 (5)	—	12
	24	5.5±0.17 (5)	2.54±0.09 (5)	159.5±1.03 (5)	166.0±3.03 (5)	—	13
IV	0 (control)	5.7±0.63 (5)	3.42±0.48 (5)	166.1±4.10 (5)	174.1±1.53 (5)	9.0″	
	1	8.0±0.88 (5)	2.73±0.40 (5)	162.1±1.48 (5)	174.9±3.05 (5)	30.0″	7
	4	7.0±0.41 (4)	3.65±0.43 (4)	165.0±0.97 (4)	169.7±2.65 (4)	41.0″	8
	76	7.8±0.30* (9)	2.80±0.16 (8)	165.6±1.81 (9)	168.8±1.30* (9)	39.0″	9

*; Significantly different from 0-hour control value ($p \leq 0.05$).
″; serums were analyzed in a lump.

平均値に有意差を示した実験区とその時間はヘモグロビン量変化とは一致しないが，酸素量減少実験の全個体のヘモグロビン量とヘマトクリット値の間には正の相関々係が認められた。

蛋白質量：全実験を通して，蛋白質量の変動はほとんど認められなかったが，実験Ⅱで実験開始後24時間目に有意な減少がみられた。

グルコース量：実験ⅠとⅡでは増加が顕著であった。実験Ⅲでは実験開始後7時間目に増加が認められた。この実験区の対照値（実験開始0時間）は低く，溶存酸素量低下により増加の傾向がみられるが，高血糖と判断することは困難である。実験Ⅳではグルコース量の有意な増加は認められなかった。

クロライド量：実験ⅠとⅢでクロライド量の有意な増加が認められた。実験Ⅱの5.5時間目には非常に高い値を示す個体がみられたが，平均値としては有意差を示さなかった。実験Ⅳではクロ

ライド量の変動はほとんどみられなかった。

ナトリウム量：実験Ⅰでは対照値と0.5時間の値に有意差は認められなかった。実験Ⅱでは5.5時間目に有意な増加がみられた。実験Ⅲではどの時刻でも有意な変化はみられなかった。実験Ⅳの76時間目に有意な減少が得られた。全体としてはっきりした変動の傾向はみられなかった。

コーチゾール量：実験ⅠとⅡのような急激な溶存酸素量減少時には有意な増加がみられたが，個体差が非常に大きかった。

3．考　察

海産魚マダイの酸素消費量に関しては種々な発育段階の個体で測定されている（山口1978）にもかかわらず，酸素欠乏症に関する報告例は少ない。梶山（1933），田村（1950），磯野・中村（1929）らは呼吸数の変化，酸素消費量の変化，呼吸停止時の溶存酸素量等を調べている。実験温度や取扱い条件等によって異なるが，2.0ml/l の溶存酸素量でマダイは窒息を示す場合もありうるようである。

これらの数値からみると今回の実験条件は，マダイにとっては致死的な溶存酸素量に近いところまで，種々な酸素減少速度で変化させたということになり，この状態におかれたマダイの初期の生理学的反応をみたことになる。

1）ヘマトクリット値とヘモグロビン量

マダイ以外の魚の酸素欠乏の影響や窒息については古くからよく研究されているが，その中心主題は酸素欠乏に対する特異的適応反応の研究にあったと考えられ，その対象となった症状は主に血液性状変化であった。狩谷(1950)は密閉コンテナにコイを入れ溶存酸素量の経時的な減少と血中ヘモグロビン量増加と赤血球抵抗力減少の関係を観察し，Hall et al.（1926）は海産魚で同様の実験を行った時の赤血球数，ヘモグロビン含量，血糖，非蛋白態窒素，血中塩素量，全窒素，乾物量を測定した。彼はヘモグロビン量と赤血球数は増加したがヘマトクリット値は減少したとしている。狩谷，Hall et al. の観察は2時間程度の短い期間の反応であった。他方，Prosser et al.（1957）はキンギョの飼育水の酸素量を低下させて数日後のヘモグロビン量と赤血球数の増加を報告している。Wood and Johansen（1972）は1～2週間低酸素状態に置いたウナギで，血液の酸素容量，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，赤血球中高エネルギーリン酸や血中乳酸量等を測定したが，ヘモグロビン量とヘマトクリット値の増加を認めている。また，Swift and Lloyd（1974）はカニュレーションを施したニジマスで溶存酸素量低下を起した時のヘマトクリット値や尿量の経時的変化を観察し，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値の増加を認めている。Kirk（1974）は淡水魚 catfish を止水に入れ，酸素量を 0 mg/l にまで下げ，10分間放置した後の経過を時間単位で追跡しているが，この時には血中乳酸量，浸透圧，ヘマトクリット値増加，血液 pH の低下を報告している。

一方，Hattingh（1976）は9～90%の酸素飽和水中に *Labeo capensis* を24時間置いた後，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値には変化が認められず，低酸素条件下でグルコース量増加が

認められたとしている。Scott and Rogers (1981) も channel catfish で 1.5 ppm の低酸素下に置かれた時の血液性状を報告しており，ヘモグロビン量，乳酸，グルコース量の増加を報告しているが，ヘマトクリット値,赤血球数には変動が認められなかったとしている。また，Weber et al. (1979) は空気呼吸の出来るアマゾン河の淡水魚を低溶存酸素量状態で飼育した時の行動変化や血液性状変化が魚種によって異なることを報告した。

これらの諸報告にみられるヘモグロビン量の増加は低酸素環境に対する適応的反応として考えられてきた。すなわち，溶存酸素量低下による鰓からの酸素とり込み量の低下が起こす組織供給酸素量の不足をヘモグロビン量増加によって緩和させるための代償的機能と考えられてきた。しかし，Hattingh (1976) や Weber et al. (1979) の報告は低酸素状態への適応は全ての魚種でヘモグロビン量，ヘマトクリット値，赤血球数増加の形で同じように起るわけではないことを示している。魚の低酸素状態への適応は赤血球の酸素結合能力や血液の酸素運搬量だけを考えるのではなく，行動，器官，組織，細胞の機能変化等も含めて総合的に考えねばならない。

ヘマトクリット値上昇の理由として，脾臓からの血球放出，稀釈尿排泄に伴なう血液濃縮 (Swift and Lloyd, 1974)，赤血球の膨潤等が考えられている。今回の実験結果では蛋白質量の変動があまりみられない点や，ヘモグロビン量とヘマトクリット値が共に上昇の傾向を示すことなどから赤血球の膨潤によるものとは考えられない。Swift and Lloyd (1974) が考えているように，刺激によって時間経過につれて血液濃縮と貯蔵器官からの血球放出が同時に起こっているのであろう。

魚は低酸素状態への適応を赤血球酸素結合能の増加と組織の酸素利用率の低下によって行っているというが (Prosser et al. 1957)，今回の実験の範囲では，急激な酸素量低下条件に対応してヘモグロビン濃度の増加が認められている場合もある（実験Ⅳ)。しかし他の実験例では認められない場合もあり，ヘモグロビン濃度増加の機構が長期にわたる適応的な反応の場合と短期のストレス反応の場合とで同一であるか否かは明らかではない。

2) グルコース量

低酸素環境下の魚での高血糖についての記載例は多く，本実験の場合のように，比較的短時間に溶存酸素量の大きな減少がみられる場合にはグルコース量の増加が認められている。しかも，この酸素量減少の負荷が数日間続いた場合にもグルコース値は高い場合が多い。Hattingh (1976) は *Labeo capensis* で酸素飽和度40%以下で顕著な高血糖を認めており，Harman and Johnson (1980) はカニュレーションを施した魚を低酸素下で強制運動させた時に顕著な高血糖を報告した。Walker and Johansen (1977) はキンギョで，低温順応魚を低酸素状態においた時に著しい高血糖を示すことを報告し，Scott and Rogers (1981) は channel catfish を 1.5 ppm 酸素下においた時に著しい高血糖を観察している。これらは主に淡水魚での報告例であるが，Love (1970) は急激な窒息はストレス反応を起し血糖値を増加させると結論している。本実験でも同様の現象が認められており，溶存酸素量の減少速度が大きいほど，血糖値増加は短時間以内に現われる傾向がある。

3) コーチゾール量

コーチゾールは炭水化物代謝にも深い関係があるとされているが溶存酸素量低下時にはコーチゾール量（ Table 10）の増加が認められている。本実験範囲では溶存酸素量低下が継続している間はコーチゾール分泌亢進が持続していることがうかがえる。環境水の酸素量低下時の魚の血中コーチゾール量の変動についての報告例は少ない。DEMAËL and GARIN（1978）は低酸素下の *Tinca tinca* で高い値を示すとしている。これは本実験の結果と同じで魚の嫌気的代謝への切り換え時にコーチゾールが何らかの役割を果していることを予想させる。

4)　血液中無機成分量

低酸素条件下の魚の血中無機成分量の変動に関してはいくつかの報告例はあるが，その結果はかなり混乱している。KIRK（1974）は catfish で一時的な低酸素による血中無機成分の変動は季節によって異なるという結果を得ており，HALL et al.（1926）は短時間の窒息で海産魚の血中塩素量はほとんど変化しなかったとしている。LLOYD and WHITE（1967）は炭酸ガスを吹き込んで飼育水の炭酸ガス濃度を上げた時のニジマスのナトリウム，クロライドイオン量の変化を調べ，クロライドイオンの著しい減少を報告した。

本実験結果ではナトリウム量とクロライド量の経時的な変化が認められているものの一定の変動傾向を認めることはむつかしい。溶存酸素量の減少条件下においたマダイは，それに対して適応的に特異な生理学的変化を示すと同時に一般的なストレス反応を起こしていると考えられるから，一時的な塩類平衡失調が起こることはあり得ると推測される。

5)　クラスター分析

これら血液性状分析結果から，魚の状態の判定を行うためにクラスター分析を行った。

各実験の各時間のヘマトクリット値，グルコース量の対数変換値，血清ナトリウム量の平均値を元データとしこれらの組み合わせによる相分別を行った。ユークリッド距離の算出や融合方法は前述した。この結果を Table 11, Fig. 15に示した。 Fig. 15にみられるように，それぞれの平均値は3群に分けることが出来る。第1グループは対照群を含み，3要素の組合せの点で対照

Table 11. Euclidean distances between clusters. The cluster number is shown in Table 10.

Cluster number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2	525											
3	204	1233										
4	136	261	423									
5	518	37	1306	359								
6	621	605	735	216	881							
7	401	67	892	146	164	361						
8	162	591	211	188	684	444	311					
9	216	431	330	82	580	190	184	57				
10	310	1506	14	591	1577	917	1123	310	468			
11	534	1907	79	828	2018	1063	1439	469	639	32		
12	398	1769	79	740	1815	1121	1418	545	699	48	71	
13	335	1604	31	640	1665	988	1237	403	556	10	39	14

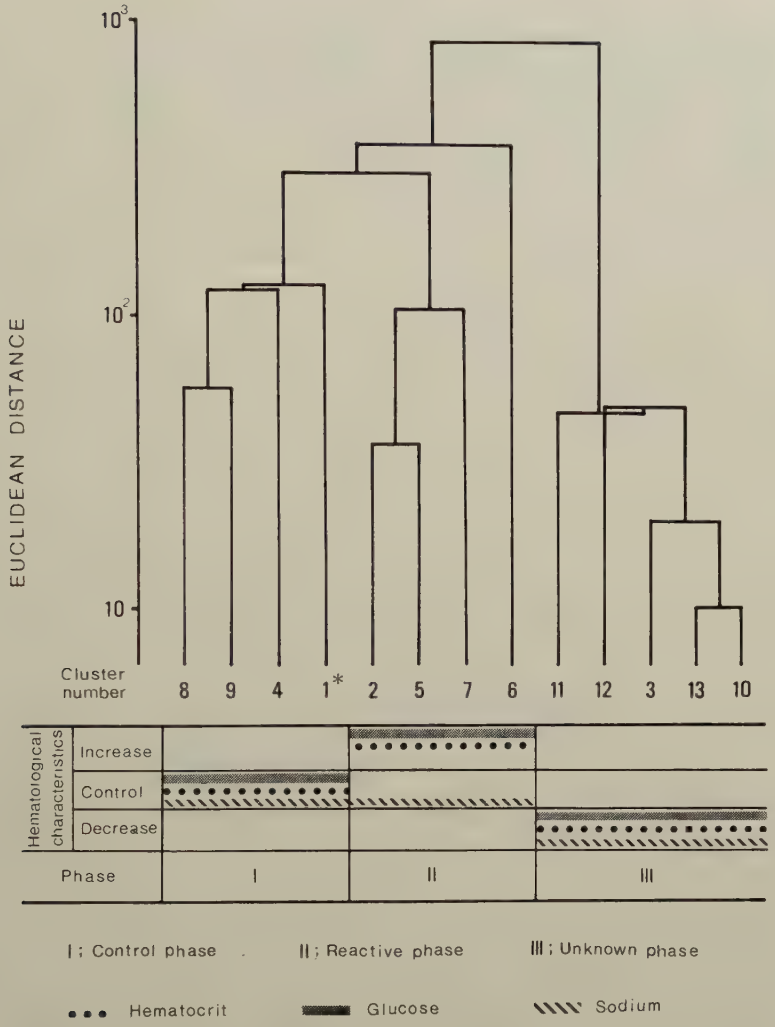


Fig. 15. Differentiations of hematological phases on stress responses of the fish under water oxygen reduction by cluster analysis. Cluster numbers are listed in Table 10.
*; Cluster number based on mean values calculated from controls through all experiments.

値と差がないと考えられるグループ，第Ⅱグループはヘマトクリット値とグルコース値が有意に高いグループ，第Ⅲグループは3要素が全て対照と比較して低い値を示すグループとして分けられている。この Ⅲ グループは主に実験Ⅳの各時間帯の平均値で占められているが，実験Ⅳの対照値も低い値であるところから，この実験Ⅳの魚群は生理学的に何らかの問題を含んでいたのかもしれない。

酸素分圧低下時の反応から魚のストレスの程度を分類しようとした試みでは，温度や塩分変化の時の反応の分類時（第2節，第3節）のように，浸透圧失調を起したと考えられる相(疲弊相)を欠いているが，個体毎のデータでみるとこの相に属すると考えられる個体も認められる。この疲弊相の欠如は，実験条件がグループとしての疲弊相を生ずるのに十分でなかったためであろう。

第5節　麻酔，取り扱い時の血液状変化

活魚の輸送，採卵，採精，仕分け，標識づけ，体重測定などにあたっては，魚を取り上げて作業せざるをえない。この時，魚は暴れるので作業が円滑に行われないと同時に，魚は生理学的に大きな変動を経験し，その後の摂餌，成長，生残等に影響を与えることはよく知られている。これらの問題を解決するために，作業時には麻酔剤が使用されることも多い。取り扱いや麻酔時の魚の生理学的変動に関しては主にニジマス，コイ，ティラピア等の淡水魚で，ホルモン，血液性状，血液成分，心拍数等についての報告がみられる。

ここではマダイを麻酔した時や各種の取り扱い時に血液性状や成分に現われる変化を知るための実験を行い，この時のストレス反応の特徴を明らかにしようとした。

1．実験方法

実験Ⅰ：緩やかな取り扱いの影響をみるため，3001 水槽2個に マダイ1年魚（平均値±標準偏差：体長13.0±0.29cm，体重66.1±4.28g）を5尾づつ収容した。対照群の魚は1尾づつネットで取り上げ直ちに採血を行った。5尾の採血には約10分間を要した。実験群は，1尾づつ手網で取り上げた後，その手網の中で1分間空中に放置した後採血を行った。実験水温は16.2℃であった。

実験Ⅱ：通常の魚の生理学的実験のための手術程度の取り扱いの影響をみるために，胃中に餌を強制投与する方法を用いた。供試マダイの尾叉長，体重はそれぞれ12.8±0.87cm，58.7±12.25g（平均値±標準偏差）であった。餌料は細切したマダイ筋肉を用いた。マダイは1尾づつ取り上げ，MS 222 100 ppm で約2分間かけて麻酔し，塩化ビニールチューブを胃中に挿入し，ガラス棒で餌料約1gを胃中に押し込んだ。この間1尾あたり5～7分を要した。25尾についてこの取り扱いを行い，その後1トンのコンクリート水槽に収容した後，経時的に5尾づつ取り上げ採血を行った。対照としては餌料を挿入しないほかは全く同じ取扱いをしたマダイ5尾について実験開始後24時間を経て採血したものを用いた。水温は18.0℃～19.0℃であった。

実験Ⅲ：供試魚の尾叉長と体重はそれぞれ15.9±0.23cm，88.6±3.94g（平均値±標準偏差）のものを用いた。麻酔剤 MS 222（Ethyl m-aminobenzoate methanesulfonate）濃度を100ppmと 50 ppm とした海水 30l に5尾の 魚を収容した。麻酔剤を中和することはしなかった。100 ppm の場合には麻酔液に収容後2～10分間ですべての魚が横転したが，50ppm の場合には約15～30分間を要した。両濃度で横転した魚は直ちに取り上げ採血した。この実験の間それぞれの水槽では十分にエアレーションを行った。水温は26.4℃であった。

2．実験結果

実験結果はまとめて Table 12 に示した。

実験Ⅰのネット内で1分間空中放置という条件では，測定項目中ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，グルコース量，ナトリウム量，塩素量，コーチゾール量では有意な変動は認められなかったがカリウム量のみ有意な減少が検出された。

実験Ⅱはより苛酷な条件として設定されたが，24時間後の対照区と比較すると，グルコース量は取り扱い直後（0時間）から有意に高い値を示し，2時間後に最高値を示した。ヘマトクリッ

Table 12. Hematological characteristics and serum constituents of the red sea bream exposed to handling and to anesthetics (mean±s.e. n=5).

Experimental conditions	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Serum constituents				
			Glucose (mg/dl)	Sodium (mEq)	Chloride (mEq)	Potassium (mEq)	Cortisol (ng/ml)
Handling I							
Control	5.3±0.51	25.5±2.73	47.6±1.50	168.6±2.53	176.5±2.39	7.40±0.77	t
Hanging in the air within net for 1 min.	5.4±0.13	29.7±0.62	51.1±3.95	166.8±2.63	176.5±0.80	4.78±0.34[3)]	7.0
Handling II[1)]							
Time elapsed (h)							
0	6.9±0.32	35.4±1.35	117.8±12.16[3)]	211.7±8.21	197.6±7.63	8.17±0.42[3)]	—
1	5.9±0.67	32.4±3.86	187.2±24.84[3)]	203.5±9.01	181.6±2.99	8.05±0.90	—
2	5.7±0.63	33.0±1.89	209.5±51.70[3)]	222.4±5.62	175.5±6.22	7.53±0.36[3)]	—
4	4.7±0.31[3)]	26.4±1.09	157.5±34.11	214.5±10.55	178.4±3.68	6.11±0.39	—
8	6.3±0.27	28.9±2.77	100.2±28.38	216.9±9.98	184.2±3.44	7.41±0.46	—
24(Control)[2)]	6.4±0.34	30.1±1.61	77.7±5.92	200.9±7.45	187.8±4.88	5.9 ±0.46	—
Anesthetics							
Control	5.9±0.62	35.3±4.32	67.4±6.74	194.4±3.18			
MS 222 100ppm[4)] (2-10 min)	6.11±0.55	43.9±3.29	76.5±4.32	204.3±5.53			
MS 222 50ppm[4)] (15-30 min)	4.0[3)]	36.9±2.07	245.1±29.88[3)]	217.6±3.86[3)]			

1); The fish were netted, anesthetized and inserted red sea bream flesh through the polyvinyl tube into the stomach. Those handling necessitated about 5 minutes.

2); Control fishes were handled as same as others without food insertion by polyvinyl tube into the stomach.

3); Significantly different from controls ($p \leqq 0.05$).

4); Immediately after loss of equiliblium.

t; undetectable.

ト値は取り扱い直後にやや高い値が認められるものの有意差を生ずるには至らなかった。ヘモグロビン量は4時間後に有意に低い値を示し，この時にはヘマトクリット値もやや低い平均値を示した。カリウム量は実験Ⅰの場合とは異なって，取り扱いによって有意に高い値が得られた。ナトリウムとクロライド量では有意な変動は検出されなかった。

麻酔剤に魚を浸漬した実験の中（実験Ⅲ），100ppm で短時間で横転した場合の魚のヘモグロビン量，ヘマトクリット値，血清グルコース，ナトリウム量はやや増加する傾向は認められたが対照区と比較して有意差を生ずるには至らなかった。一方，50ppm で横転までに15分以上かかった魚ではヘモグロビン量の有意な低下，血清グルコース量の著しい増加と血清ナトリウム量の増加が認められた。

3. 考　察

1）取扱いのストレッサーとしての意義

最近，取り扱い（handling）に関する生理生化学的研究は多く，特に魚のストレス反応に関して報告されているストレッサーの過半数は“取り扱いストレス”である。細かく条件を調べれば多くの相違は認められるものの“取り扱い”の内容は何らかの方法で魚を捕獲し，魚を空中に取り出し処置し，あるいは放置し，さらに水槽にかえすといった操作を含んでいる点では一致している。魚にとっては不本意な強制運動を課せられ，鰓を環境水が灌流することを妨げられること

により急激な窒息状態に陥とし入れられるという負荷をかけられたことになる。

さらに広い意味での“取り扱い”という場合には麻酔での処理もその過程の中に含まれる場合がある。“麻酔する”ということは，狭義の“取り扱い”に加えて，吸収された麻酔剤の作用により呼吸運動も含めて運動機能を低下させるという側面がある。魚が生きている限り自律神経系はなお機能を継続しているがその変調があることは考えられる。これらの“取り扱い”や麻酔による魚の生理学的攪乱（physiological disturbance）は種々な角度から研究の対象とされている。最も多いのは血液性状，血漿，血清成分の変化であるが，他に酸素消費量（Beggs et al. 1980, 田村ら1967），行動（McFarland 1960），心拍数（Leivestad et al. 1957, Randall 1962, Houston et al. 1973），体温変化（Konagaya 1977），体表粘液細胞の大きさ（Pickering and Macey 1977），粘液中のヘモグロビン様物質（Smith 1976），血液酵素活性（Bouck et al. 1978），体重変化（Stevens 1972）等が，淡水魚と海産魚で調べられている。

2）グルコース量

血液性状や血漿，血清成分のうち，“取り扱い”や麻酔時の変化で最も報告例の多いのは血糖値の変化である。いずれも今回のマダイ実験結果と同様，“取り扱い”時にはその増加が報告されている。古く Nakano and Tomlinson（1967）はニジマスの尾部をつかんでふりまわした後の血中アドレナリン，ノルアドレナリン，グルコース量の増加を認めているし，Chavin and Young（1970）はキンギョの水槽移し換えで著しい高血糖をみている。Wardle（1972）はヒラメの一種，*Pleuronectes platessa* をひき網あるいはトロールで捕獲した後の血中グルコース量の経時的変化を追跡し，数時間から数日にわたって高血糖が続くことを報告している。

Wedemeyer（1972）は coho salmon や steelhead trout の幼魚を10尾づつネットに入れ25m離れた水槽に移す操作で高血糖が顕著であったとし，Umminger（1973）はキンギョに生理的食塩水を注射するという操作で高血糖を観察した。池田（1976）は酷い取り扱いでハマチの血糖値が有意に増加すると報告し，Soivio and Oikari（1976）はカニュレーションを施した *Esox lucius* を円筒に入れ，これを円筒毎20秒間持ち上げる操作をくり返した時の血中乳酸，グルコース，無機塩類，ヘモグロビン，ヘマトクリット値を経時的に測定し，高血糖をみており，Casillas and Smith（1977）もニジマスを釣でつり下げた後の高血糖を観察している。

Pasanen et al.（1979）は野外で捕獲した魚を麻酔し標識をつけ30分後再び取り上げた時の血中グルコース，乳酸の動態を報告し，Strange（1980）は channel catfish（*Ictalurus punctatus*）40尾をネットに入れ，28×28×10cmの中に数分から3日にわたって保持し，血中コーチゾール，グルコース量の時間的変化を調べ，いづれも高血糖を報告している。Pickering et al.（1982）は brown trout（*Salmo trutta*）をハンド・ネットで取り上げ，小さな水槽に2分間閉じ込めておくという操作が血中コーチゾール，グルコース，乳酸値を高くすると報告している。本研究のマダイの取り扱い実験Ⅰではグルコース値は特に変化しておらず実験Ⅱでの値（0時間）は大きく増加している。これは，取り扱いの“強度”がグルコースの増加速度に影響するものと考えてよいであろう。取り扱いの“強度”を量的に表示することは大変難しいが逆に血中グルコースやコーチゾール濃度の変動で評価することはできる。

“取り扱い”の影響を極力少なくし麻酔をかけた時，麻酔剤の効果を，魚のストレス反応の程度によって判定しようとする考え方の報告には，血糖値の測定が多い。SOIVIO et al.（1977）のニジマスで行った MS222，中和 MS222，Benzocaine の血液性状に与える影響実験では，麻酔中の低血糖とそれに引き続く覚醒期の高血糖が報告されている。麻酔直後の血糖値が大きく変動しないことは WEDEMEYER（1970）がニジマスにおける MS222，中和 MS222，Benzocaine の影響の実験で，HOUSTON et al.（1971）が brook trout（*Salvelimus fontinalis*）に対する tricaine methanesulfonate の影響実験で，SMIT et al.（1979 a, b, c）のコイ，ティラピア，ニジマスに対する MS222，中和 MS222 の影響の実験結果ですべて一致している。これらは本実験で得られた 100ppm MS222 麻酔の場合と類似した結果となっている。しかし，50ppm の麻酔では麻酔に要する時間が長く，有意な高血糖値は“取り扱い”および麻酔のための呼吸機能低下による低酸素症等二次的複合的ストレッサーの影響が遅延して発現する時点を把握したためと考えられる。この濃度による血液性状の変化については FERREIRA et al.（1981）も淡水魚で同様の傾向を得ている。

3）血中無機成分量

取り扱いストレス時の血中無機イオンの変動については，魚種や条件等によってその在り方が異なっている。WEDEMEYER（1972）は前述の取り扱い条件で coho salmon と steelhead trout で血中クロライド量は低下したと述べており，SOIVIO et al.（1977）は汽水中の northern pike では“取り扱い”により血漿ナトリウム量はほとんど変動せず，血漿カリウム量が一時的な増加や数時間後の減少を示すと述べている。池田（1976）もハマチで苛酷な取り扱いが血中カリウム，ナトリウム，クロライド量を増加させるとしている。BEGGS et al.（1980）は*Esox masquinongy* で“取り扱い”後血中ナトリウム量の変化はないが，弱った魚ではカリウム量が高かったとしている。

麻酔中や回復期の血中無機塩の変動はナトリウム量に認められ，HOUSTON et al.（1971）FERREIRA et al.（1981）が淡水魚で報告している。本研究のマダイでも MS222 50ppm 麻酔で血清ナトリウム量の有意な増加が認められており，報告例と一致している。海水魚でのナトリウム量の増加は魚体の脱水による濃縮と海水ナトリウムの流入で説明されるが，淡水魚での増加の理由は明らかでない。

4）ヘモグロビン量とヘマトクリット値

ヘモグロビン・ヘマトクリット値の変動は魚種に関係なく一定の傾向がみられる。本研究のマダイの実験条件では，ヘマトクリット値は取り扱い直後にやや高い値を示す傾向がみられたのみであったが，BOUCK and BALL（1966）はニジマスで種々な捕獲方法を採った時にヘモグロビン量，赤血球の大きさ，蛋白質濃度が変化するとしており，さらに別の実験でヘマトクリット値が大きく変動することを報告している。CASILLAS and SMITH（1977）はニジマスで取り扱い時に血液凝固時間は減少し，栓球数，ヘマトクリット値は増加したとし，PICKERING et al.（1982）は*Salmo trutta* で血漿中 lymphocyte 数が増減するとした。

麻酔後のマダイの血液性状変化ではヘマトクリット値の増加傾向がわずかにみられる程度であ

るが，この値の増加は HOUSTON et al.（1971）FERRIRA et al.（1981），SOIVIO et al.（1977）が淡水魚で報告し，その理由として HATTINGH（1977）は MS222 が直接血球の膨潤を起すとしており，SOIVIO et al.（1974, 1978）は MS222 による鰓血管中の血液稀釈や腎血管中の赤血球凝集を報告している。

5）ホルモン

ストレス反応をホルモンの動態で把握しようという観点から，血中カテコーラミン，コーチゾール等の測定も行われている。マダイの取り扱い時のコーチゾール量変化は明確でないが，種々なストレスでのその変化は明らかである（石岡1980a，1980b，1982）。SPIELER（1974）はキンギョで，PICKERING et al.（1982）は brown trout で，STRANGE（1980）は channel catfish で取り扱いストレスでいずれも増加すると報告している。麻酔時のこのホルモンの増加に関しては STRANGE and SCHRECK（1987）が Chinook salmon で，WEDEMEYER（1970）がニジマスで観察している。

6）反応の時間的経過

血液性状の“取り扱い”や麻酔後の変化については，魚種，取り扱い条件等の違いはあるものの，最も興味をひく点は反応の時間経過である。本研究のマダイの実験では処理直後よりも，その後の時間経過の中で反応が極大に達する時点が認められている。特に血糖値の変動については，最高血糖値に至るまでの時間が長いことが明らかであり，これに関与する要因はストレッサーの強さと水温にあると考えられる。実験Ⅰと実験Ⅱの取り扱い直後の反応の相違は刺激量の大きさの差によると考えられるが，さらに実験Ⅰのような取り扱い条件で対照区との有意差が生じなかったのは，十分な反応を起こす時間が不足した可能性もある。類似した現象は CHAVIN and YOUNG（1970）も報告しており，変温動物での time lag は極めて大きい。STRANGE（1980）は反応の大きさと起こり方が温度に依存することを明らかにした。

本研究の結果や文献から，取り扱いや麻酔実験で時間経過の明らかなものを選び出し Fig. 16 に示した。全体の傾向をみると，ヘモグロビン量やヘマトクリット値の増加反応は分の単位で起こっているが，グルコース量やコーチゾール量の増加反応は数10分後から数時間にわたって認められる。乳酸増加の反応はこれらに先行するようである。血中無機塩ではナトリウムやクロライド量等の変動はあまり大きくなく，変動する場合にもその方向は一定しない。むしろ，早い時期に起こるカリウム量の変化が興味深い。環境要因が起こすマダイのストレス反応をみた実験（第2，3，4節）では，ヘマトクリット値上昇とグルコース量増加の反応は比較的遅い同一時期に起こっており，反応期の特徴となっていたが，麻酔や“取り扱い”時には血液性状変化の反応が早い時期に進行しているという特徴がある。しかも，血液性状や血中無機塩の動態の方向は報告により必ずしも一致していない。大きな変化を示すものは医学的にはショックといわれる症状を伴う反応が進行していると判断した方がよいようにも思える。ショックとは毛細血管透過性の増加による循環血液量の進行性減少を特徴とした臨床上の状態と定義されている。SOIVIO et al.（1974）は麻酔時のニジマスの腎臓で組織の浮腫，毛細血管や類洞での血球凝集，血流停滞や鰓血管中の血液稀釈等を報告しているが，これはショック症状を裏付けるものであろう。血液濃縮

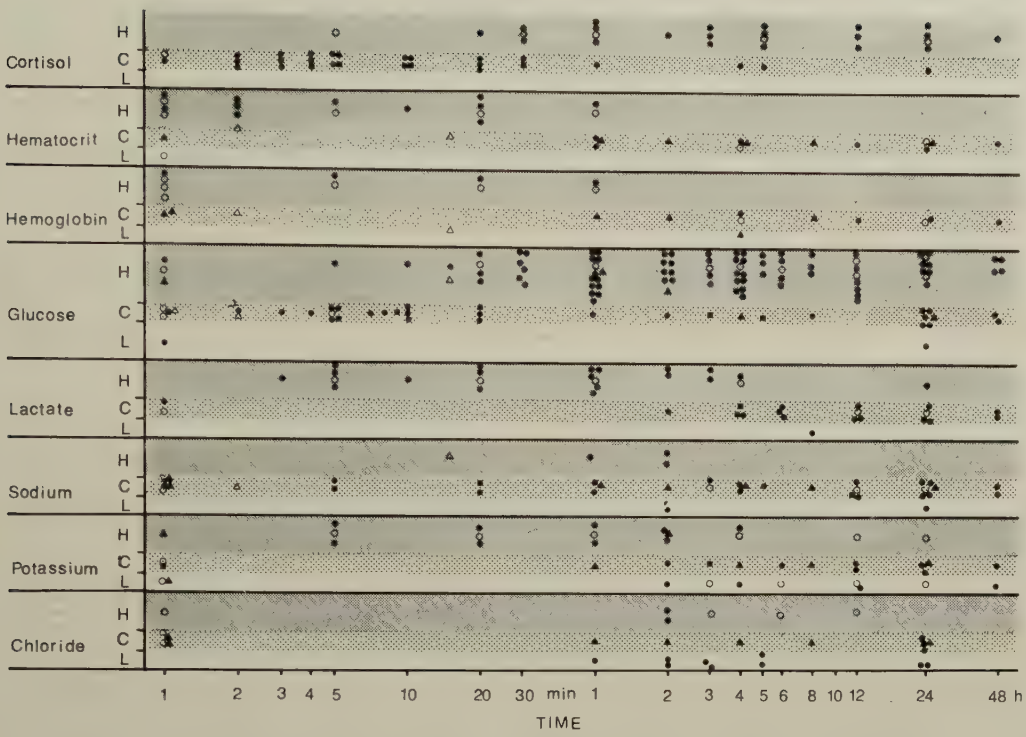


Fig. 16. Review from the references on the effects of hadling and anesthetization on hematological parameters and on the blood chemistry. The fishes include rainbow trout, goldfish, carp, plaice, and others (see references).
Open circles; data from the fish treated with MS222.
Closed circles; data from the fish under handling.
Open triangle; data from red sea breams treated with MS222 (present results).
Closed triangle; data from red sea breams under handling (present results).
H; higher levels than controls.
C; control level.
L; lower levels than cotrols.

や血中無機塩の変動の大きさと反応の速さ等からきたショック症状とみられる報告例を総合すると，魚種やストレッサーの在り方によって反応の大きさや起こり方が異なるとはいえ，魚が棲息する環境の中で与えられるストレッサーに比べ“取り扱い”や麻酔のストレッサーとしての強度は極めて大きいものと考えざるをえない。

“取り扱い”の時に不可避で無理な筋肉運動を麻酔剤の使用は鎮静させる効果や，反射を抑制する効果はあるが，MS222 のように中枢作用性を示す薬剤（関沢，1987）では，それによるストレス反応が遅延して起こることは当然予想されるところである。

第６節　輸送時の血液性状変化

マダイはほとんど周年にわたり日本沿岸で捕獲され，刺身材料としての需要も多く，活魚の商品価値はきわめて高い。さらに近年はマダイ資源量増加を目的とした種苗放流も盛んに行われる

ようになった。これらの情勢はマダイの活魚輸送の重要性を増し，ひいてはその研究の必要性を増大させている。

魚類輸送時の魚の生理学的性状の変化に関しては古くから興味を持たれ，生理学的観点からのみならず実用的観点からの研究も多い。特に魚の呼吸と排泄の生理学は活魚輸送の基本であるところから重点的に研究された。しかしその基本となる物質代謝面からの研究は局部的には深められているが必ずしも十分ではない。

本節では輸送時のマダイの血液性状に現われる変化をストレス反応の観点からみるために，輸送経過中のマダイの血液のヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量を測定した。

1．実験方法

輸送条件の概要を Table 13 に示した。

実験Ⅰから実験Ⅲまでは活魚倉（1×1×1m）を持った小型船舶による輸送実験であり，船底の一部は開口しており，海水交換を行いながらの輸送である。船の速度は 18.5km/h 程度であった。

実験Ⅰは広島県音戸町の広島県水産試験場の生簀網より，同所で種苗生産されたマダイを手網で取り上げ，船に収容し，2時間かけて水産研究所まで輸送した。

実験Ⅱは広島県沖美町で種苗生産され飼育されていたマダイを取り上げ船で1時間輸送した。

Table 13. The experimental conditions during transportations.

Experiment number	Date	No. of fish	Fish size (mean±s.d.) Length(cm)	Weight(g)	Experimental conditions
Live well transportation by the ship					
I	'76, May. 17	20	12.8±1.18	74.4±19.00	The fish was transported for 2 hrs soon after being transferred from the stock nets to living well with influent sea water.
II	'76, Jul. 22	10	15.2±1.06	122.5±27.91	The same as above but the fish was transported for lhr. soon after being transferred.
III	'77, May. 30	20	11.6±0.64	51.6± 7.46	The same as above but the fish was allowed to recover in the living well for a day before transportation.
Container transportation by truck					
IV	'81, Jun. 11	15	11.1±0.80	30.7± 6.78	Five fish were confined in each polyvinyl bag (20 l sea water) with the oxygen gas filled and transported at once.
V	'81, Jun. 12	20	11.5±0.80	32.7± 7.54	The same as above but the fish were allowed to recover in the bag for a day before transportation.

water temperature 20.5–21.5℃

実験Ⅲは輸送に入る前段階での取り扱いの影響がかなり大きいと考えられたので，輸送24時間前に船の活魚倉へ魚を収容し放置した後，輸送し，経時的にマダイを取り上げ採血を行った。

実験ⅣとⅤはコンテナによる輸送実験である。二重大型ビニール袋に濾過海水20 l を入れ，これに5尾宛マダイを収容し，直後に酸素ガス（99%）を30秒間吹き込んで密閉し，ダンボール箱に入れトラックに積み込んで輸送した。酸素吹き込み直後の溶存酸素量はウインクラー法により14.3ml/l であり，この間の水温は20.5～21.5℃であった。

この際次の2つの取り扱い法を用いた。実験Ⅳはストック水槽から取り上げて直ちにコンテナに移し輸送を行った。実験Ⅴは取り扱いの影響を除くために，輸送の24時間前にマダイを輸送コンテナに収容し，その容器内でエアレーションを行った。

コンテナ輸送中の溶存酸素量は酸素吹き込み直後よりやや多く，1時間輸送以後全実験期間を通じて16.1±1.60ml/l （n＝12）であった。

輸送直前コンテナに酸素を吹き込む前に5尾より採血しこれを対照区とした。

輸送中，および輸送後の適当な時期に5尾づつ収容のコンテナを1個毎開封しマダイのキュビエ氏管より採血し，これらよりヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量の分析を行った。

2. 実験結果

ヘマトクリット値の推移を Fig. 17 に示した。全体的に個体差が大きいが，船舶輸送とコンテナ輸送では様相が異なっている。活魚倉輸送の場合，実験ⅠとⅡでは1時間，2時間の輸送直後

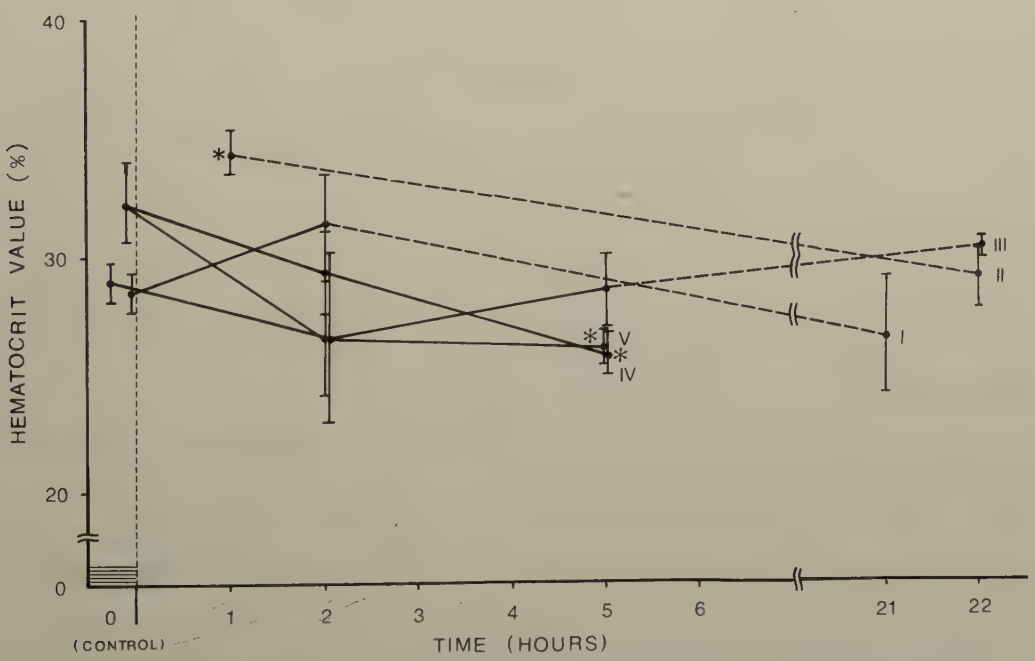


Fig. 17. Hematocrit values of the red sea bream during (solid line) and after (dotted line) transportation (mean±s.e.). Ⅰ-Ⅴ; Experiment number. *; Significantly different from 0-hour control value ($p \leq 0.05$).

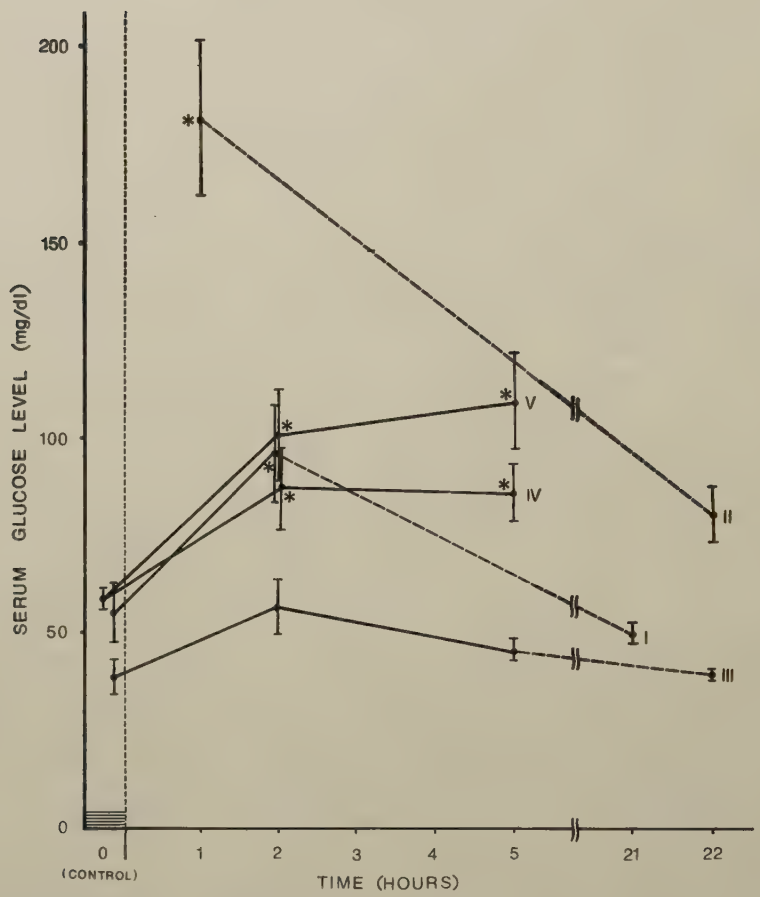


Fig. 18. Serum glucose level of the red sea bream during (solid line) and after (dotted line) the transportation (mean±s. e.).
Ⅰ-Ⅴ; Experiment number.
*; Significantly different from control levels ($p \leqq 0.05$).

の値は対照値や回復後の値に比べて高い傾向が認められるが，実験Ⅲのように輸送直前の“取り扱い”の影響を避けた実験ではほとんど変化が認められなかった。コンテナ輸送の場合には輸送終了時には有意に低いヘマトクリット値が得られた。

血清グルコース量の変化を Fig. 18 に示した。この値は大きく変化するが，輸送方法によって変化の様相や変化の程度が異なった。活魚倉輸送Ⅰ，Ⅱでは輸送終了後のグルコース量は極めて多いが，実験Ⅲではわずかな上昇の傾向は認められたものの対照区との間に有意差は生じなかった。コンテナ輸送では，実験Ⅳ，Ⅴ共に同程度のグルコース量増加が認められ，有意に高い値を示した。

血清ナトリウム量は対照区の値をみても実験の時期や年度によって値が大きく異なっている (Fig. 19)。船舶輸送の場合には，実験Ⅰ，Ⅲでいづれもゆっくりとした増加の傾向が認められたが，実験Ⅱの1時間輸送直後には24時間後の値と比べるとその傾向はみられなかった。トラック

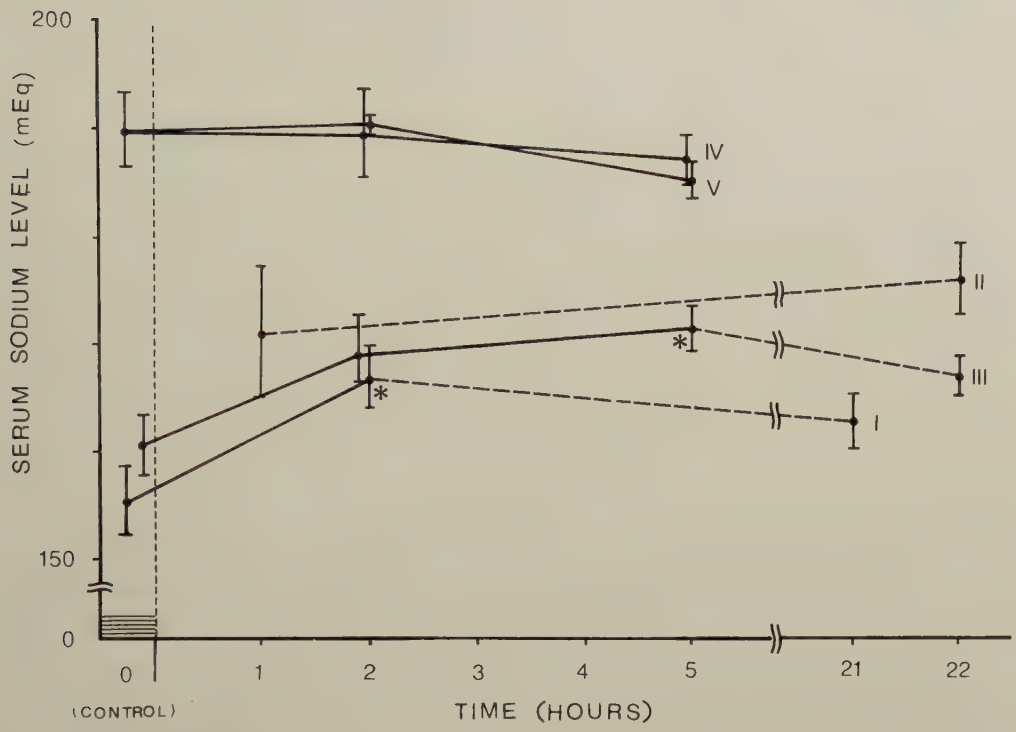


Fig. 19. Serum sodium level of the red sea bream during (solid line) and after (dotted line) transportation (mean±s. e.). Ⅰ-Ⅴ; Experiment number. *; Significantly different from control levels ($p \leq 0.05$).

輸送の実験では輸送期間中いづれも非常に高い血清ナトリウム量を示すが，経時的に増加あるいは減少の傾向は認められなかった。

3．考　察

輸送される魚はその過程で，ネットによる移しかえ，強制運動，強制収容，環境要因（温度，酸素量等）の変化，振動，高密度収容，水質悪化，高溶存酸素量等のストレッサーに複合的にかつ連続的に曝露されることになる。これら個々のストレッサーに対する魚の反応は生理学的観点から研究されたが，輸送が魚に与える総合的な影響についても実用的な必要性から古くから研究されている。その内容は大きく分けると，輸送方法の技術的問題を中心課題としたものと，輸送が魚類の生理におよぼす影響を中心としたものとの二つに分けられる。後者についてはストレス反応の概念を根底に含んでいるものも多い。

輸送が魚の生理に与える影響としては，輸送中の魚の酸素消費量が多く測定された（林，1977）。この時の魚の血液酸素結合能等も測定され，板沢（1982）は水無し輸送，タンク輸送，プラスチック袋輸送時の酸素収支をまとめており，水中の炭酸ガス，pH，アンモニア，懸濁物，温度，魚の興奮等が，輸送中の魚の酸素収支に影響を与えるとしている。

マダイに関して諸岡（1967）によると，活魚輸送の実際では，水温15～20℃で酸素消費量120 ml O_2/kg·h を概算の基礎とすればよいとしている。田中（1965）も小ダイでこれに近い値を示

し，輸送前の“取り扱い”の影響が数時間にわたって残ることを報告している。

興奮や“取り扱い”に関する魚のストレス反応の報告は第5節に述べたように最近多くなっているが，輸送時の反応もこの観点からの研究がみられるようになった。

1）コーチゾール量

輸送時の内分泌系反応としては血中コーチゾール量が定量されている。SPECKER and SCHRECK (1980) はギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*) 稚魚を 2001 のプラスチック容器に入れ陸上輸送し，収容密度，海水，淡水の種類等にかかわらず，輸送直後には極めて高い値を得ている。また，BARTON et al. (1980) もニジマス稚魚で捕獲からトラック輸送を経て再収容までの経過中の血漿コーチゾール量の変動をみており，この影響は数日間残るとしている。さらに，この傾向は通気方法や食塩添加，麻酔，低温輸送等輸送条件を変えても変らず，現在の技術水準ではストレス反応を阻止することはできないと結論した。

2）グルコース量

内分泌系反応以外で最も顕著な変化は本実験で明らかにされたように血糖値の上昇である。しかし，輸送中に血糖値を測定した例は少なく，また，本実験にもみられたようにその測定値のばらつきは大きい。TANDON and JOSHI (1973) はナマズ (*Heteropneustes fossilis*) を河から取り上げ，水槽に入れ，実験室まで運ぶ過程を経た後の魚の血糖値の変化を追跡しており，一過性の著しい増加を報告している。FLETCHER (1975) もヒラメ類 (*Pseudopleuronectes americanus*) を野外で捕獲し，研究室まで輸送した時の血液成分を調べ，血中グルコース量は増加したとしている。PASANEN et al. (1979) も *Coregonus albula* で捕獲，輸送，標識付け等の後の血中グルコース量と血中乳酸量を測定し，数時間を経ても非常に高い値が継続することを報告している。ALDRIN et al. (1979) はギンザケを輸送した時，平均値で有意差は生じなかったが，輸送後数時間は高い値がみられるとしている。

今回の実験で，船舶による輸送では“取り扱い”の影響を除くために24時間後に輸送した時にはグルコース量の変化は大きくないという点とコンテナ輸送時の高い溶存酸素分圧と狭い容器への収容の場合には事前の“取り扱い”条件の有無にかかわらずグルコース量が有意に増加したという事実は，輸送時の“取り扱い”と環境条件の変化が血糖値を大きく左右する条件となっていることを教えてくれる。

3）乳　　酸

輸送中の魚の乳酸生成については，輸送時の酸素供給量の不足と魚の嫌気的代謝の関係の観点から注目され，比較的古くから研究が進められた。HAYASHI et al. (1964) はニジマスについて輸送時の血液と筋肉中の乳酸量は輸送開始数分で増加するが，時間が経つにつれて減少する傾向を示し，乳酸生成量は絶食魚で少なかったとしている。TANDON and JOSHI (1973) はナマズで輸送後数時間に血中乳酸量が最大になることを報告し，PASANEN et al. (1979) は乳酸量の一時的増加では季節によってその程度が異なることを報告している。これら血中乳酸量の増加は筋肉中に生成された乳酸に由来すると考えられており，HAYASHI et al. (1964)，井上・古市 (1979) によるニジマスやマダイの例にみられるように，輸送中の筋肉中乳酸含量は血中乳酸量に比べて高い

値を示した。最近，WARDLE（1978）は筋肉組織から血中への乳酸の放出はアドレナリンによって制御されると報告している。

4）無機成分量

輸送による浸透圧変化や血中無機塩量の変動についての報告もいくつかみられる。HATTINGH and PLETZEN（1974）は淡水魚ナマズ（*Labeo umbratus*）を空気の吹き込みと酸素95%炭酸ガス5%の混合ガス吹き込みを行いながらタンクで輸送した時の1，2日後の血液性状は2週間以上経過した後の血液性状と比べて浸透圧が低下していると述べており，FLETCHER（1974）は海産魚ヒラメ類で捕獲して輸送した後に血漿浸透圧，血漿ナトリウム量，クロライド量，カリウム量が増加しているとしている。ALDRIN et al.（1979）はギンザケの血中ナトリウム量は淡水での輸送により増加し，塩素量とカリウム量は減少したと報告している。本研究のマダイでは船舶輸送の場合に血清ナトリウム量の一時的増加が認められる場合があったが，コンテナ輸送時には特に大きな変化は認められなかった。この実験結果や諸報告から判断する限りでは血中無機塩の変動様式は必ずしも一定ではない。淡水と海水の違い，経時的な条件変化などにより複雑に変動するのであろう。

5）ヘマトクリット値とヘモグロビン量

ヘマトクリット値等の血液性状については，ALDRIN et al.（1979）はギンザケで，FLETCHER（1974）はヒラメ類で輸送後数時間のヘマトクリット値が極めて大きくなるとしている。しかし，HATTINGH and PLETZEN（1974）は輸送後1～2日にはヘマトクリット値は低下すると報告しており両者は一致していない。これは淡水と海水の違いや対照との比較の基準や時間的経過に相違があるので，同一の傾向を得ることができなかったのはむしろ当然であるかもしれない。詳細な経時的変化を追跡する必要があろう。

今回のマダイ実験結果でも，明瞭な一定の傾向は認め難かった。船舶輸送実験Ⅱで輸送直後に有意に高いヘマトクリット値が認められているが，実験Ⅲの“取り扱い”を除いた条件では有意差のある値を得ていない点から，ヘマトクリット値の増加は“取り扱い”の影響が大きいと考えた方がよい。実験ⅣとⅤのコンテナ輸送の場合には5時間輸送後にヘマトクリット値の有意な低下を得ているが，時間経過と値からみて，酸素ガス通気により溶存酸素量が過飽和になった影響と考えざるをえない。

ヘモグロビン量に関しては，増加を示す報告（ALDRIN et al. 1979）もみられるが，HAYASHI et al.（1964），HATTINGH and PLETCHEN（1974）の変化なし，あるいは輸送2日後には低下したという報告もあり，一致しない。

6）輸送時のストレス反応の特徴

環境要因変化，麻酔，取り扱い時にみられたストレス反応が，輸送という複合的ストレッサーに曝される場合でも同様に起こるか否かを検討し，ヘマトクリット値，グルコース量，血清ナトリウム量に変化が認められる場合があることは今回の実験で確認された。しかしすべての実験例で同一の反応形式がみられなかったことは，他の諸報告と同様に一つの大きな特徴である。すな

わち反応の大きさや反応が最大に達する時間が実験毎に異なっている。これは輸送条件の中でストレッサーとして作用する複数の要因のそれぞれの強度と作用時間が異なることに由来すると考えざるをえない。すなわち，捕獲の方法，取り扱い，収容密度，収容水の状態，輸送条件，魚の慣れ等が個々の実験で異なっていたため，同じような様式の反応としては現われにくいものと考えられる。ただし，今回の船舶輸送実験結果や諸報告の反応時間と反応の大きさ等からみると，捕獲や輸送前の“取り扱い”の影響が極めて大きいことは予想される。船舶輸送とコンテナ輸送ではストレッサーの種類と強度が異なることは当然予想される。どちらの場合も輸送直前の“取り扱い”によるストレスを避けることはできないが，その後の輸送中の水質などの環境要因変化によるストレスの在り方は輸送方法により大きく異なっている。ストレスの点からみれば密閉系のコンテナ輸送よりも活魚倉輸送の方が危険が少ないといえる。

海産魚成魚の輸送は活魚倉のある船によることが多いが，放流等のために卵，稚仔魚，成魚のトラック，航空機によるコンテナ輸送が行われる場合もみられる（橋本1982，武田ら1972，村井ら　1982）。短時間で遠距離輸送が可能になったので，長時間輸送による高い斃死率などの危険（Bogdan and Waluga 1980）を避けることができるようになったためである。Barton et al.（1980）が述べているように，生理学的負荷軽減の絶対的条件を探し出すことは困難であるとしても，“取り扱い”方法の工夫や輸送条件の改善によって活魚を疲弊させないように輸送することは可能であろう。新しい輸送方法を確立するために魚の立場からみた新しい考え方や技術が期待される。

第7節　釣り上げた天然魚の血液性状

養殖魚と天然魚については，形態，化学的成分，生理・生態学的特性の相違が種々な観点から報告されている。マダイについても形態学，体成分の比較等が行われているが，捕獲や飼育による生理学的影響を受けていない天然魚の入手が困難なため血液性状に関する報告はみられない。そこで本節では天然のマダイを釣り上げた時の血液性状と成分を測定し，その結果を養殖魚のストレス時の結果と比較することで天然マダイの釣り上げ時ストレス反応の特性を明らかにすることを試みた。

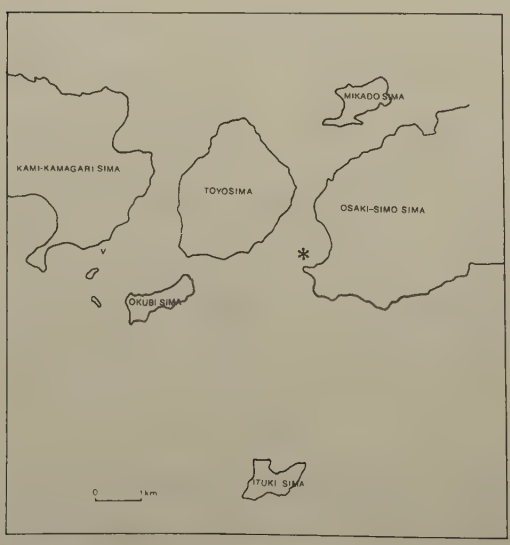


Fig. 20. The area where wild red sea breams were angled. *; Fishing ground.

1．実験方法

天然マダイの釣調査は1975年から1979年の5月，6月，7月に行った。魚は広島県豊島周辺海域において釣り上げたものより採血した。豊島周辺の地図を Fig. 20 に示

した。特に豊島と大崎下島の間の保育魚礁を中心として釣りを行った。3艘の活魚倉を備えた舟を流れに沿って流しながら釣り上げ，ただちにキュビエ氏管から注射器により採血を行った。血液は氷冷しておき2時間後に陸上で血清分離を行った。可能な場合には一部はヘパリンソーダを加えた注射器で採血し，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量の測定に供した。なお，海上で3艘に分乗しての採血のため，釣り上げから採血までの時間は，1分から10分くらいまでであった。

2. 実験結果と考察

釣り上げた魚は0歳魚から4歳魚程度まで種々な年齢組成で，種々な釣り上げ場所と時期のものが含まれているがこれを釣り上げ日ごとの平均値で Table 14 に示した。ヘマトクリット値は0歳魚の試料のみ測定できた。ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量の値の頻度分布を Fig. 21, Fig. 22, Fig. 23 に示した。ヘマトクリット値は32%以上を示し，第一章の各種実験で用いた対照群の値（31.6±6.81%）と比べてやや高い傾向がみられる。血糖値は，釣り上げ日ごとに差がみられるが，対照群の値（60.5±24.02mg/dl）とは大差がない。血清ナトリウム量は，釣り上げ日毎の変動が極めて大きいという特徴がみられる。血清クロライド量はやはりサンプリング日毎に変動はするものの血清ナトリウムほど大きく変化しない。カリウム，カルシウム，マグネシウム量は変動が大きい。

血糖と血清ナトリウム量について，体長との関係をみたが，特に相関は認められなかった。

養殖魚と天然魚では，同一種類であっても種々な差のあることがよく知られている。マダイについても，形態学的な差（北島1978，石岡・国行未発表，松宮ら1982）や体成分の差（大島ら1983）が報告されている。このことは，マダイの天然海域での生活が生態学的および生理学的観点からみても養殖魚のそれとは大きく異なっていることを予想させる。

Table 14. Serum constituents of angled wild red sea breams (mean±s.e., with fish number in the parenthesis).

Item	Date of angling							
	May '75	May '75	May '76	June '76	July '76	July '77	Sept. '77	July '79
Body length(cm)	34.7±7.80 (12)	24.9±2.10 (5)	11.0±2.22 (8)	34.1±5.38 (12)	13.7±2.58 (8)	13.8±3.60 (14)	13.2±2.99 (10)	13.9±0.73 (20)
Body weight(g)	1458±1138 (12)	496±158 (5)	44.3±38.2 (8)	1136±477 (12)	119±69.2 (8)	106±103 (14)	98.7±55.1 (10)	66.3±10.5 (20)
Hematocrit value (%)	—	—	—	—	—	32.6±3.65 (7)	38.2±9.11 (6)	34.6±2.60 (18)
Glucose(mg/dl)	74.3±40.53 (11)	48.8±33.23 (5)	—	—	—	58.3±19.15 (14)	—	65.2±6.49 (17)
Sodium(mEq)	187.7±31.0 (12)	184.0±7.3 (5)	163.2±6.7 (7)	170.7±12.7 (11)	161.6±7.2 (8)	176.7±9.3 (13)	—	203.8±17.2 (15)
Chloride(mEq)	166.2±20.6 (12)	171.6±10.4 (5)	161.8±10.7 (7)	160.6±6.0 (11)	159.1±5.1 (8)	169.1±7.6 (12)	—	—
Potassium(mEq)	2.66±0.51 (12)	—	7.86±2.89 (6)	2.42±0.97 (11)	2.19±0.90 (5)	5.52±2.35 (12)	—	—
Calcium (mEq)	—	—	6.43±0.61 (6)	10.76±3.08 (11)	7.94 (3)	7.03±0.57 (10)	—	—
Magnesium(mEq)	0.60±0.15 (12)	0.39±0.13 (5)	1.48±0.38 (6)	3.48±0.86 (11)	1.94 (3)	2.28±0.45 (10)	—	—

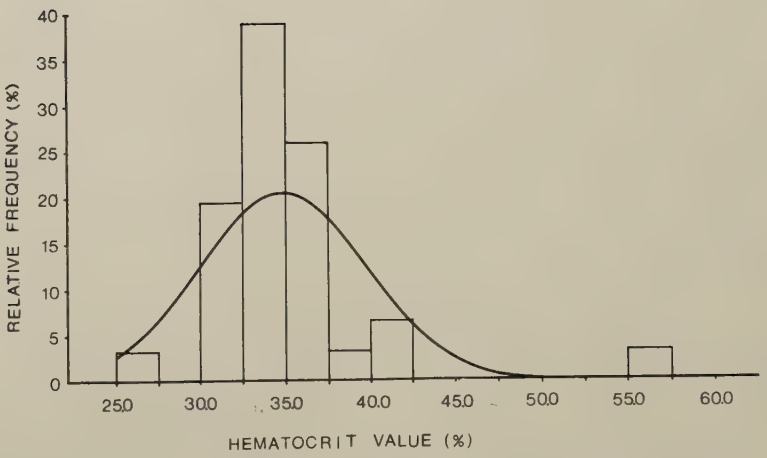


Fig. 21. Histogram of hematocrit values of angled wild red sea breams.

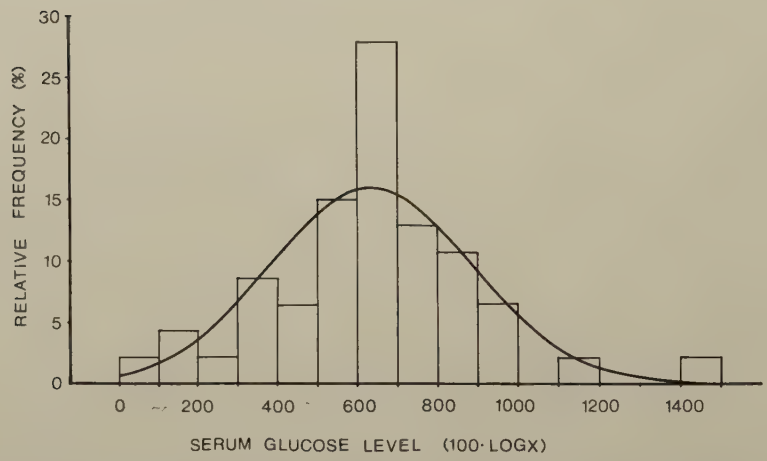


Fig. 22. Histogram of serum glucose levels of angled wild red sea breams.

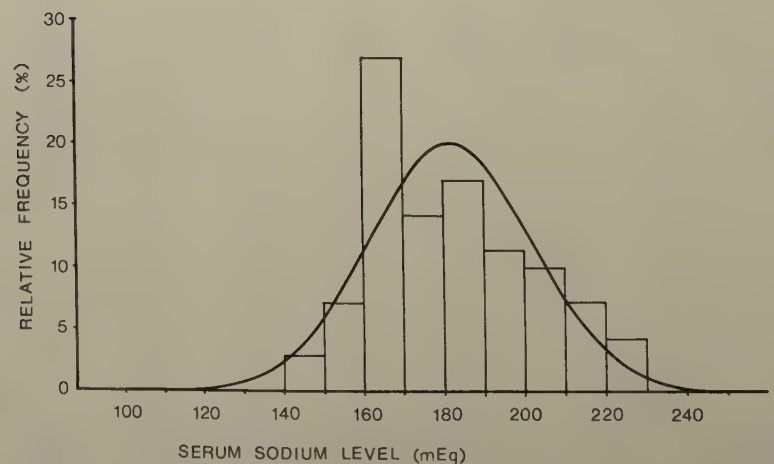


Fig. 23. Histogram of serum sodium levels of angled wild red sea breams.

近年，魚類の血液性状は，養殖魚の健康状態を判定する目的でさかんに測定されるようになった。特に淡水魚のニジマス，カワマス，コイ，ウナギ，アユなどでは赤血球数，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量などについておおよその正常値が知られている（川津，1980）。しかし，経験的に魚では哺乳類のような標準値の設定は困難であることが指摘されている。

本研究では，天然魚を釣り上げ，その場で採血して，天然棲息時の血液性状成分を推測しようと試みた。しかし，**Table 14, Fig. 21, Fig. 22, Fig. 23** に示されているように，値のばらつきが非常に大きく，サンプリング日毎の平均の値が大きく異なるという結果を得た。この海域ではマダイ稚魚の放流が数多く行われた（広島県水試ほか1982）ため，釣り上げた魚群の組成が本当の天然魚と放流魚の混合となっている可能性もあるが，それよりも“釣り上げる”という取り扱いの影響が加わるためとも考えられる。釣り（angling）の影響に関して池田（1976）は，養殖ハマチを対象として，釣り上げ直後の可及的速やかな採血では，血液性状，成分の個体差が小さいが，運搬等の条件が加わると個体差が大きくなるとしている。また，Bouck and Ball（1966）はルアーによるニジマスの釣り上げでは，捕獲後の斃死は80%にも達し，ヘモグロビン量と血漿蛋白量がネット捕獲個体とは異なる値を示したとしている。さらに，Bouck at al.（1978）はニジマスを水槽から釣り上げて血液性状を測定し，ヘマトクリット値が，釣りの場合のように捕獲後あばれる状態では非常に高い値を示したという。さらに，Beggs and Holeton（1980）は天然で釣り上げた後輸送し，カニュレーションを施した *Esox masquinongy* で著しい血中乳酸の増加やカリウム血症を認めており，この場合には30%が斃死している。これらの報告は水中で鉤にかかってから釣り上げて空中で鉤を外すまでの時間での魚の激しい苦悶行動が血液性状に大きな影響を与えることを意味しているものと思われる。本実験のマダイの釣り上げ時のストレス状態については第8節で検討したい。

第8節　小　括

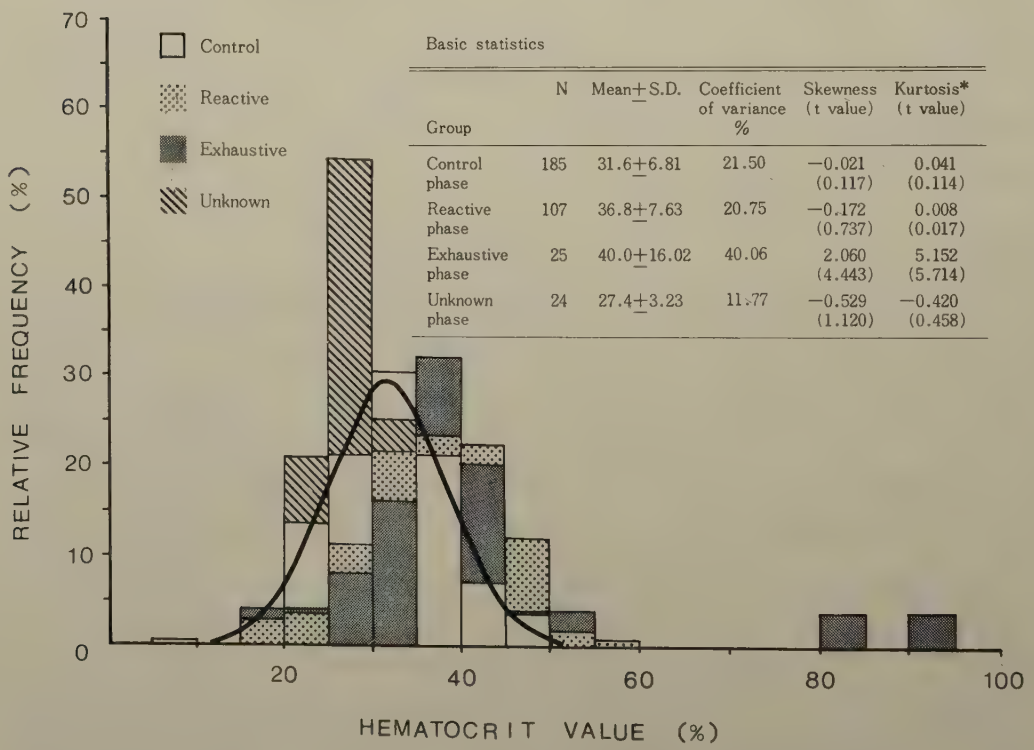
第2節，第3節，第4節では，それぞれ，環境水の温度，塩分，酸素分圧の変化の幅と変化速度を変えて，これがストレッサーとなり得ることを報告し，さらに第5節，第6節，第7節では取り扱い，麻酔，輸送，釣り等，魚を扱う一般的作業の中で魚がストレス反応を起こすことを明らかにした。これらストレッサーの種類が異なっても血液中のグルコースやコーチゾール量の増加，一価無機塩の変動，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値の変動が顕著に認められた。

温度，塩分，酸素分圧については，ストレッサーとしての強度を物理的尺度で表示できるが，取り扱い，麻酔，輸送，釣り等の場合には極めて困難である。ストレッサーの物理的強度が明らかな場合にヘマトクリット値，グルコース量，血清ナトリウム量を組み合わせてストレス反応を相に分けるクラスター分析はそれぞれ各節で行った。各実験の対照群（ストレッサーを与えていない状態）に対してグルコース量，ヘマトクリット値増加を伴なう相（反応相）は3種類のストレッサーに共通して存在した。温度実験で認められた第Ⅳ期，塩分実験で認められた第Ⅲ期には斃死魚が出ているので疲弊相とした。ストレッサーの物理的強度が不明な場合や複合している場合にも，前述の各相の特徴から魚に惹き起こされたストレス状態を判定することができると考え

られる。それでストレッサー強度とストレス反応相が明らかな実験結果をすべてまとめてストレス反応相判定のための資料とした。具体的にいえば，温度，塩分，溶存酸素量変化の３実験の対照相すべての個体のデータを対照群とし，反応相のクラスターに含まれる個体のデータを反応群とし，疲弊相に含まれる個体データを疲弊群とし統合して取り扱った。また，酸素分圧低下実験時の未同定相（unknown）は別に１群として取り扱った。各ストレス反応相のヘマトクリット値，グルコース量，血清ナトリウム量のヒストグラムを Fig. 24, Fig. 25, Fig. 26 に示した。

ヘマトクリット値では，対照相はきれいな正規分布を示し（Fig. 24），反応相でも正規性は高く，分布は対照相に比べて高い値の方へ平均値で約16%移動している。しかし疲弊相では分散が大きくなり，正規分布を示さない。グルコース量は対照相を構成しているデータで正規分布を示さず，むしろ対数正規分布に近い。そのため横軸は対数値で示した（Fig. 25）。反応相，被弊相となるにしたがって分散は大きくなり，対数正規分布からも大きくはずれる。平均値では反応相では対照相の２倍以上を示し，分布の重なりも少ない。血清ナトリウム量は変動がそれほど大きくなく，その分布は正規分布に近いが，やや尖りの鋭い分布となる（Fig. 26）。反応相，疲弊相と移動するにつれて分散は大きくなる傾向はここでもみられる。

個体群にストレッサーが加えられた時，末梢の血液性状に現われる反応は次のように考えられる。ヘマトクリット値の場合には血液濃縮や貯蔵血球放出などの現象が個体毎の反応速度に応じ



Basic statistics

Group	N	Mean±S.D.	Coefficient of variance %	Skewness (t value)	Kurtosis* (t value)
Control phase	185	31.6±6.81	21.50	−0.021 (0.117)	0.041 (0.114)
Reactive phase	107	36.8±7.63	20.75	−0.172 (0.737)	0.008 (0.017)
Exhaustive phase	25	40.0±16.02	40.06	2.060 (4.443)	5.152 (5.714)
Unknown phase	24	27.4±3.23	11.77	−0.529 (1.120)	−0.420 (0.458)

Fig. 24. Histogram of hematocrit values of red sea breams under control, reactive, exhaustive and unknown phases.
*: calculated by Statistical Methods (5th edition) by G. W. Snedecor 1956.

Basic statistics

Group	N	Mean±S.D.	Coefficient of variance %	Skewness (t value)	Kurtosis* (t value)
Control phase	185	60.5±24.02	39.68	1.838 (10.289)	5.045 (14.193)
〃 **		403.9±34.95	8.65	0.506 (2.832)	0.431 (1.211)
Reactive phase	107	179.4±140.45	78.31	1.480 (6.338)	1.557 (3.361)
〃 **		491.6±76.61	15.58	−0.401 (1.716)	1.734 (3.744)
Exhaustive phase	25	205.2±209.38	102.06	0.979 (2.111)	−0.106 (0.118)
〃 **		449.6±163.72	36.41	−0.869 (1.875)	0.191 (0.212)
Unknown phase	24	41.8±5.84	13.95	−0.357 (0.756)	−0.086 (0.094)
〃 **		372.4±14.62	3.93	−0.767 (1.624)	−0.737 (0.803)

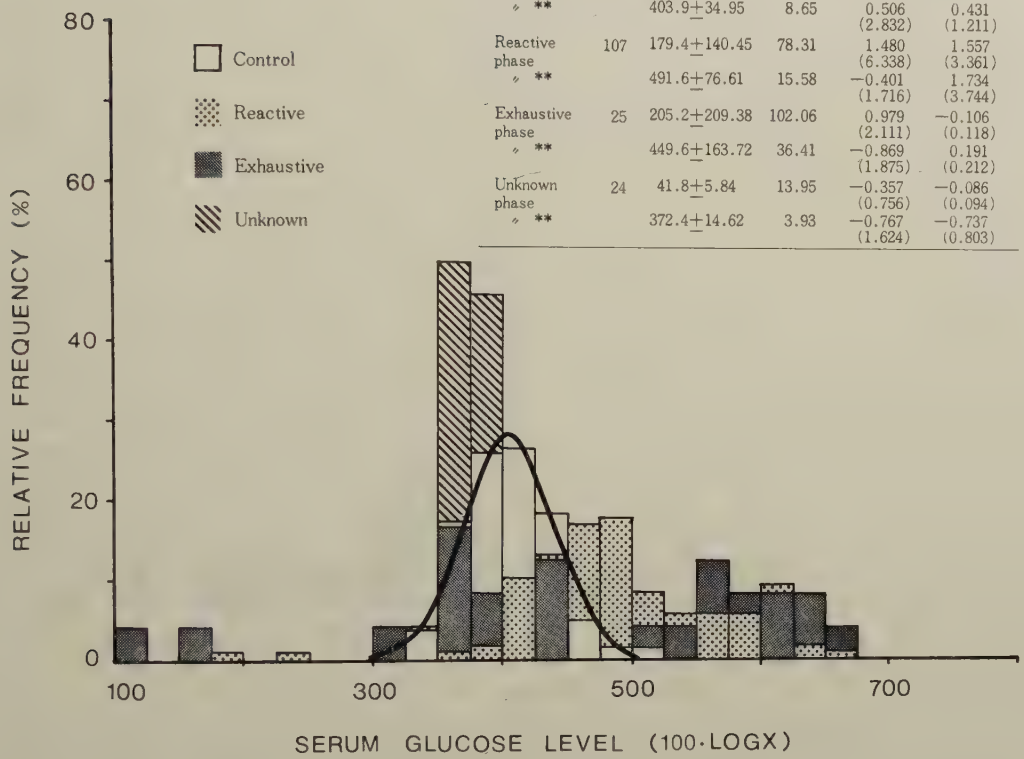


Fig. 25. Histogram of serum glucose levels transformed of the red sea breams under control, reactive, exhaustive and unknown phases.
*; calculated by Statistical Methods (5th edition) by G. W. Snedecor 1956.
**; transformed value (100×log(serum glucose level)).

て起こり，ストレッサー強度が強まるとストレッサーの種類に応じた刺激特有の反応も加わり個体群の分散が大きくなる。グルコース量増加は顕著な共通的反応であるがストレッサーの強度により，また個体の状態により反応速度に差があるため分散を大きくしながら平均値は高い方に移動する。疲弊状態になるとグルコース供給と消費のバランスがくずれ，個体によって低血糖から高血糖に至る広い分布を示す。血清ナトリウム量は浸透圧調節作用の指標となり得る成分であるが，対照相では正規分布を示している。ストレッサーを与えた後には変動し分散が大きくなるが平均値は大きく変動しないのが特徴的である。疲弊相に至るとさらに分散は広がりストレッサーの種類に応じた浸透圧調整機能失調と思われる値がみられる。

これら3変数（ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量）の実際の測定データは必らずしも正規分布を示すとは限らないが，例数（n）が多い対照相と反応相のデータを基準群として用い，正規分布，または対数正規分布するという仮定の下に種々な条件下の魚個体の

Basic statistics

Group	N	Mean±S.D.	Coefficient of variance %	Skewness (t value)	Kurtosis* (t value)
Control phase	185	169.6±11.07	6.53	0.111 (0.623)	1.616 (4.546)
Reactive phase	107	171.7±17.37	10.06	0.502 (2.149)	0.921 (1.988)
Exhaustive phase	25	176.9±49.62	28.05	−0.325 (0.702)	−1.018 (1.129)
Unknown phase	24	165.5±4.01	2.42	0.028 (0.059)	−0.751 (0.818)

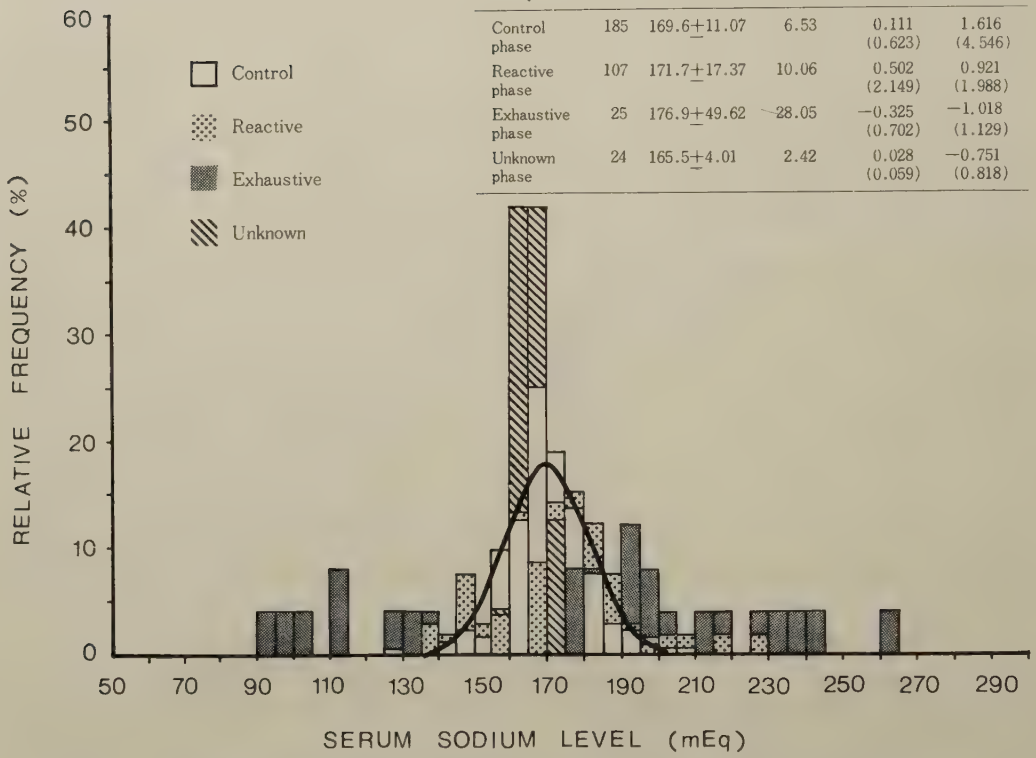


Fig. 26. Histogram of serum sodium levels of the red sea bream under control, reactive, exhaustive and unknown phases discriminated by cluster analysis.
*; calculated by Statistical Methods (5th edition) by G. W. Snedecor 1956.

ストレス状態を判定するために判別函数分析を行った。なお，3変数の数値は，各実験のクラスター分析の時と同様有効数字3桁の整数としてデータの集計を行った。すなわちヘマトクリット値は10倍し，ナトリウム量は小数点以下の数字を四捨五入し，グルコース値は自然対数に変換した後100倍して小数点以下を四捨五入し，有効数字3桁の整数とした。これを農林水産研究計算センター利用者マニュアル5，MAP にしたがい判別函数分析を行った（奥野ら1972，奥野ら1977）。

用いた群の統計量を Tables 15, 16 に示した。これから得られた情報と判別結果を Table 17 に示した。この中の相関マトリックスをみるとそれぞれの変数間の相関々係は低い。マハラノビス距離（D^2）を用いて群が分離されているかどうかについて t 検定を行った結果，2群間の平均値には有意差が認められた。しかし，グループ間の誤判別の確率（Prob.（U. GT. D/2））（Table 17）は19.8%となり，そう小さくはない。したがって5回に1回は間違って判別する可能性があることになる。Table 17 の判別函数式（$z=19.268-0.004x_1-0.029x_2-0.027x_3$），（$x$：ヘマトクリット値，$x_2$：グルコース量，$x_3$：ナトリウム量の各変換値）にみられるように対照相と反応相

Table 15. Fundamental statistics of the hematological data of control group (GRP-1). VAR-01 ; 10× (hematocrit value%), VAR-02 ; 100×log(serum glucose level mg/dl), VAR-3 ; Serum sodium level mEq.

Group name	GRP-1
Sample size	185

····· Fundamental statistics ·····

Variable	Total	Mean	Minimum	Maximum	Variance	S.D.	C.V.	Skewness	Kurtosis
VAR-01	58564.000	316.562	95.000	472.000	4633.323	68.069	21.502	−0.021	2.991
VAR-02	74712.000	403.849	330.000	518.000	1221.699	34.953	8.655	0.501	3.369
VAR-03	31375.000	169.595	129.000	207.000	122.655	11.075	6.530	0.110	4.516

····· S. S. and S. P. matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	852531.406	199424.883	33209.141
VAR-02	199424.883	224792.664	18861.622
VAR-03	33209.141	18861.622	22568.583

····· Variance-covariance matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	4633.323	1083.831	180.484
VAR-02	1083.831	1221.699	102.509
VAR-03	180.484	102.509	122.655

····· Correlation matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	1.000	0.456	0.239
VAR-02	0.456	1.000	0.265
VAR-03	0.239	0.265	1.000

Table 16. Fundamental statistics of the hematological data of stressed phase (GRP-2). VAR-01 ; 10× (hematocrit value%), VAR-02 ; 100×log(serum glucose level mg/dl)), VAR-03 ; Serum sodium level mEq.

Group name	GRP-2
Sample size	107

····· Fundamental statistics ·····

Variable	Total	Mean	Minimum	Maximum	Variance	S.D.	C.V.	Skewness	Kurtosis
VAR-01	39369.000	367.935	180.000	578.000	5827.952	76.341	20.749	−0.169	2.924
VAR-02	52606.000	491.645	195.000	653.000	5869.247	76.611	15.583	−0.393	4.555
VAR-03	18480.000	172.710	138.000	225.000	301.717	17.370	10.057	0.493	3.787

····· S. S. and S. P. matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	617762.898	85685.234	−30082.992
VAR-02	85685.234	622140.133	−39323.961
VAR-03	−30082.992	−39323.961	31982.036

····· Variance-covariance matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	5827.952	808.351	−283.802
VAR-02	808.351	5869.247	−370.981
VAR-03	−283.802	−370.981	301.717

····· Correlation matrix ·····

	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	1.000	0.138	−0.214
VAR-02	0.138	1.000	−0.279
VAR-03	−0.214	−0.279	1.000

Table 17. Discriminant analysis on hematological data. GRP-1 ; Control group. GRP-2 ; Stressed phase group. VAR-01, VAR-02, VAR-03 ; Same in Table 15 and Table 16.

Selected groups			
Group name	GRP-1	GRP-2	
Analysis group	1	2	
Sample size	185	107	
Selected variables			
Variable name	VAR-01	VAR-02	VAR-03
····· Means and standard deviations ·····			
Anal. group	VAR-01	VAR-02	VAR-03
1	316.562	403.849	169.595
2	367.935	491.645	172.710
Sigma	71.204	54.041	13.715
····· Variance-covariance matrix ·····			
	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	5069.980	983.135	10.778
VAR-02	983.139	2920.456	−70.561
VAR-03	10.778	−70.562	188.105
····· Correlation matrix ·····			
	VAR-01	VAR-02	VAR-03
VAR-01	1.000	0.255	0.011
VAR-02	0.255	1.000	−0.095
VAR-03	0.011	−0.095	1.000
····· Mahalanobis' distances between groups ·····			
Group	D	D**2	Prob.(U. GT. D/2)
1 2	1.697	2.878	0.198
····· Discriminant functions between groups ·····			
Group	Constant	L(1)	L(2)	L(3)
1 2	19.268	−0.004	−0.029	−0.027
····· Coefficients for each group ·····			
Croup	Constant	C(1)	C(2)	C(3)
1	233.006	−0.062	−0.302	−1.913
2	271.542	−0.071	−0.360	−1.967

の分離には，グルコース値と血清ナトリウム量の値が大きく関与しているのが明らかである。

次にこれら2群を母集団とした時，第5節，第6節，第7節で扱ったストレッサーの強度を数量化できないストレス反応のデータのうちから，ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量が一個体で同時に測定された試料について，どの群(相)に属するかの判別を試みた。この結果を Table 18 に示した。対照群では185検体のうち約88%（163検体）が対照相に含まれる個体として同定された。反応群では79%が反応相個体として同定された。一方，取り扱い，麻酔，輸送，釣り上げの各ストレッサー別に判別結果を検討してみると，Table 12 に述べた酷い取り扱い直後の検体は100%が反応相と分類されたが，24時間後には40%が対照相へと回復している。船舶輸送では，Table 13 に示したような取り扱い直後に輸送した場合（I）では2時間の輸送直後には40%が反応相とされ，19～20時間の回復後には100%が対照相にもどっていると判断された。トラック輸送では輸送後2時間と5時間では約63%の個体が何らかのストレス反応を起こしていると判別された。この点のみから判断すれば活魚倉輸送が魚にとっては良いと思われる。麻酔剤 MS222 の使用はストレス反応を起こしており，天然魚の釣り上げでは30～50%がストレス反応を起こしていると判別された。

結果を詳細にみると，これらの限られた実験結果を基にしての判別函数分析にはいくつかの問題点がある。考え方の出発点はストレス反応は汎適応的反応であるから，ストレッサーの種類にかかわりなく，ストレスを受けているか否かの判定を少数の血液性状変数の変化で判定し得るで

Table 18. Summary of discrimination.

Group name	Fish number in each assigned group GRP-1	GRP-2	Ratio of stressed phase (%)
Control phase (GRP-1)	163	22	11.9
Reactive phase (GRP-2)	22	85	79.4
Handling II (Table12)			
Soon after handling	0	4	100
After 24 hours	2	3	60
Live well transportation (Table 13)			
Soon after transportation (I)	3	2	40
(III)	5	0	0
After recovery (I)	5	0	0
(III)	5	0	0
Container transportation			
Control	5	0	0
Soon after 2-hour-transportation	3	5	62.5
Soon after 5-hour-transportation	7	12	63.2
Anesthetics			
Control	3	7	70
MS 222 100ppm	0	5	100
MS 222 50ppm	0	5	100
Angling (wild fish)			
in 1977	4	2	33.3
in 1979	7	8	53.3

あろうという点にある。本研究の結果から血清グルコース量，ヘマトクリット値，血清ナトリウム量の変動等は，大きくみれば共通的な反応と判断できるため，3変数の組み合わせによって判別の精度をより上げる事も可能であろうと判断した。しかし，生理学的変化は連続した複合的な現象でありストレス反応の経過中に各変数の分散は広がり，分布型もくずれていくため，適当な統計的処理が必要と考えられるが，現在のところその方法は不明である。この影響については疲弊群とその他の群との判別を行おうとすると，大きな障害になってくる。一方，魚は変温動物であるため，今回のように測定値をそのまま基準値として用いると，季節的には適用できない時期が生じる可能性がある。マダイでは報告がみられないが，池田（1976）はハマチで赤血球数，ヘモグロビン量には季節変動があることを報告しており，尾崎（1968）はヘマトクリット値に季節変動がみられるという報告例を記載している。Davis and Simco（1976）は *Ictalurus punctatus* で血漿クロライド量やナトリウム量が季節変化をすると報告している。血糖値に関しては明確な季節変動の報告はみられないが，本研究でもみられるような time lag や肝グリコーゲン貯蔵の状態等によるストレス反応強度の違い等の可能性は考えられる。変数として用いるヘマトクリット値や血清ナトリウム量やグルコース量の血中への遊離の time lag が季節ごとに異なるとなると対照群も季節毎に設定しなければならないことになる。実験的に行う場合には各季節について対照群を作り，そのデータを用いてストレス群の値を基準化（$\frac{\bar{x}-x}{\text{s. d.}}$）すればよいであろうが，それでは一般的な適用を困難にするという欠点がある。

これら多くの基本的な問題を含んでいるにもかかわらず，あえて本研究で反応状態の判別を試みたのは，原理としては妥当であろうという点とストレス反応の性質を利用した魚のモニタリングの必要性からである。WEDEMEYER and MCLEAY（1981）が総述しているように，魚に惹き起こされたストレス反応の程度を知りたいという考え方はかなり古くからみられる。温度耐性テスト，低酸素耐性テスト，遊泳能力テスト，scope performance，感染感度テスト，薬物耐性テスト，海水淡水耐性テスト，密度ストレステスト，血糖ストレステスト，白血球ストレステスト等によって魚の全身状態を判定しようとしている。これらを SELYE（1950，1973）の提唱したストレス学説に従って解釈すれば，生物が個体の防御のために必要な移動させうるエネルギー量には一定の限度があるという概念内での試みである。あるストレス状態にある魚体に，別の負荷をかければ，その時のストレス耐性は低下するという考え方である。上記の血糖ストレステスト，白血球ストレステストはむしろ汎適応反応を確認するという考え方で行っている。本研究の中でも明らかにされたように，血糖値は変数として非常に大きな意味を持つようにみえる。MCLEAY（1973 b，1977）は血糖値が刺激量—反応量の確実な反応を示すことと測定が比較的容易であることから，これによってパルプ工場排水による魚のストレスの程度の判定を行った。本研究はこの考え方の延長上にあり，変数を増加することにより精度を上げると同時に，1変数だけでは判別できない状態の分別をねらいとした。今後この種の反応状態判定を行うには，前述の統計的取り扱い上の問題点の解決とともに，基準群となるデータのより一層の積み重ねと検討が必要であると考える。

最近，日本では種苗生産され放流される種苗の健苗性が大きな問題となっている。この健苗性の指標として遊泳能力テスト，取り扱い（handling）テスト，麻酔剤耐性テスト等が考えられている。これらは生理学的にみれば，ストレス反応を応用した種苗のモニタリングである。特に種苗の全身状態の判定を手網によって行う Handling テストは手軽にできるので広範に利用されている。すなわち，種苗を手網ですくって5秒間放置し，その後水槽に戻しその時の魚の横転率，24時間後の斃死率を指標として用いる方法である。

また，中川ら（1982a，b，c）は餌料試験の結果の魚の生理学的状態の判定にストレス反応を用いる試みを行っている。

これら生物のモニタリングの必要性は，養殖の現場では疾病防除，生残率向上，最適環境維持の観点から強く求められており，今後さらに検討を加え，現場で適用できる技術としてゆく必要があろう。

第II章　ストレス反応時の物質代謝

第1節　実験方法の検討

マダイのストレス反応時の物質代謝機構を明らかにするためには摘出した組織を対象とするのが取り扱いや操作も容易であり，結果の解析や考察も行い易い。本節では組織標本を作成し，これによるストレス反応に対応する物質代謝の様相を明らかにするのに必要な実験系および分析方

法の検討を行った結果について述べる。

1. 組織標本の調製

1) 組織標本の作製方法

マダイを飼育水槽から取り上げ，ただちに尾叉長と体重を測定し，キュビエ氏管より十分に採血を行い可能な限り血液を除いた。その後直ちに開腹し肝臓を取り出し，スタディ・リグス型スライサーを用いて常法（細谷，町谷1971）により肝スライス標本を作製した。腹腔内脂肪組織は腸管に付着しているものを，血管系や腸間膜組織が入らないよう注意して採取した。筋肉組織の白筋は背部の縁側筋肉（背鰭基部筋肉）を2㎝角程度に切り出し筋肉繊維に沿ってスライスした。赤筋は胸鰭骨上体表側筋肉を剝離して用いた（石岡，1983)。切り出した組織は氷冷したカルシウム不含クレブス氏重炭酸緩衝液で洗い，クレブス氏重炭酸緩衝液0.5mlを入れてあらかじめ秤量しておいた秤量瓶に入れ，手早く秤量し，2.5mlのクレブス氏重炭酸緩衝液を入れた反応フラスコに緩衝液ごと入れた。用いたクレブス氏重炭酸緩衝液（pH 7.4）の組成を Table 19 に示した。実際の実験にあたっては95% O_2 と5% CO_2 から成る混合ガスをフラスコに吹き込み緩衝液を飽和して用いた。

Table 19. Composition of Kreb's bicarbonate ringer solution.

Chemicals	g/l	Chemicals	g/l
NaCl	6.92	KH_2PO_4	0.16
KCl	0.35	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.29
$CaCl_2$	0.28	$NaHCO_3$	2.1

2) 組織切片の厚さ

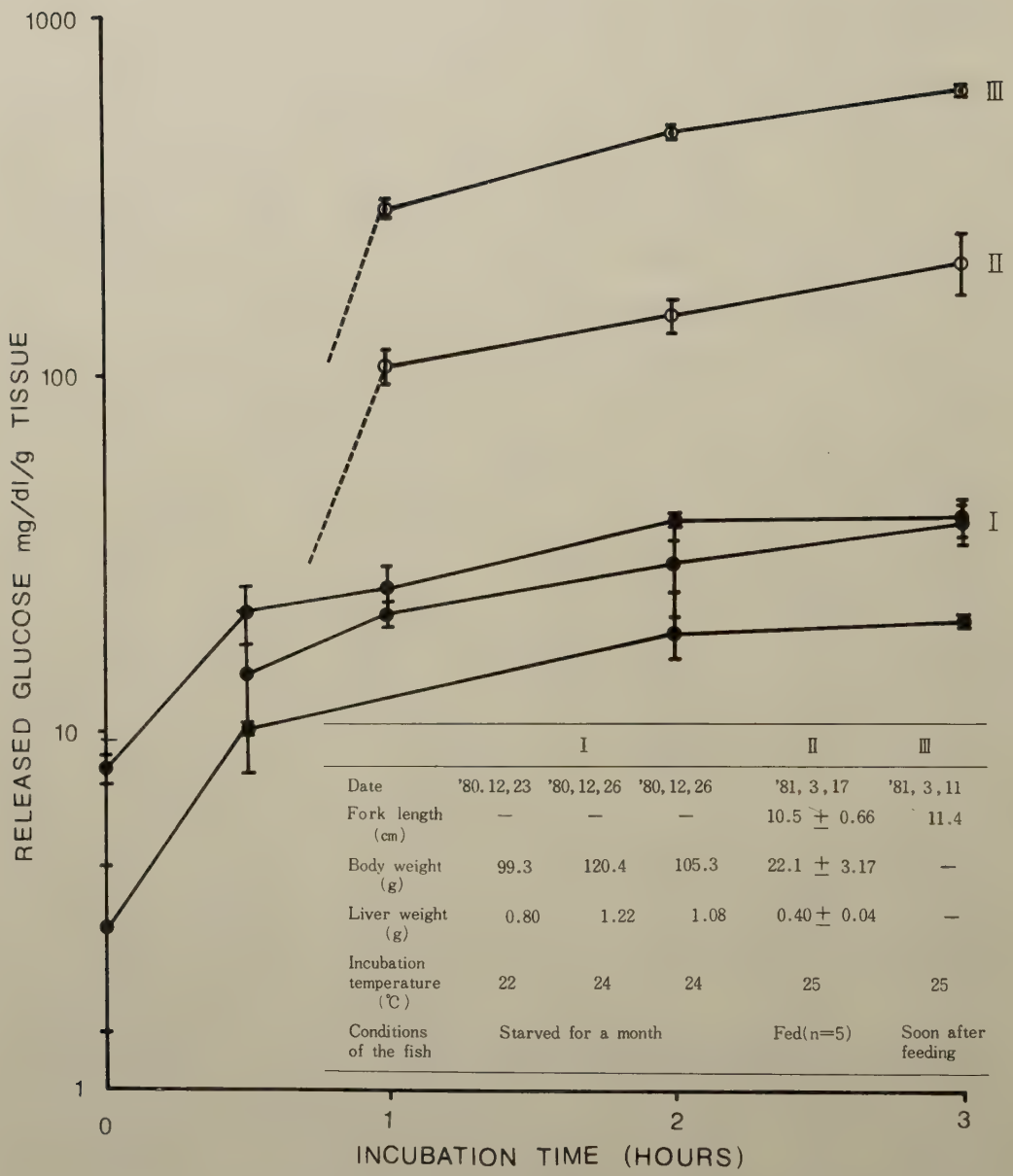
スタディ・リグス型スライサーで組織を切り出し，これをクレブス氏重炭酸緩衝液で洗滌し，1㎜のグラフ用紙上にひろげ，その輪廓をなぞり面積を算出した。組織切片は附着液を除き，あらかじめ恒量にした秤量瓶に入れ重量を測定した。面積と重量から組織の比重を1と仮定した時の厚さを計算により求めた。結果を Table 20 に示した。切る時の刃の角度，組織の抑え方，組織の状態（飢餓状態あるいは肥満状態）によって厚さは変わるが，同一組織はほぼ同一厚さで切ることができた。

Table 20. Thickness of tissue slices in mm (mean±s.d.).

Fish No.	Liver	Muscle
1	0.454±0.057 (n=9)	0.301±0.062 (n=9)
2	0.441±0.085 (n=5)	0.477±0.059 (n=5)

3) 摘出組織標本の反応の個体差と反応時間

組織切片の反応の個体差と条件差を検討するために，Table 19 に示した組成の培養液3 ml に100～300㎎の肝臓組織標本を入れ，95% O_2 と5% CO_2 混合ガスを吹き込み振盪培養し，経時的に培養液をサンプリングし，遊離グルコース量を測定した。同一条件の組織標本よりの遊離グルコース量はほぼ同一であった（Fig. 27)。実験条件のうち特に実験魚の飢餓は遊離グルコース量を著しく低下させることが明らかとなった。肝臓切片では実験開始後1時間までのグルコース遊離量は大きいが，1時間以後は遊離グルコース量は減少した。本研究ではストレス時の比較的短時間内に起こる代謝反応をみることを目的としているので，反応時間は数時間以内とする必要



	Ⅰ			Ⅱ	Ⅲ
Date	'80. 12, 23	'80, 12, 26	'80, 12, 26	'81, 3, 17	'81, 3, 11
Fork length (cm)	—	—	—	10.5 ± 0.66	11.4
Body weight (g)	99.3	120.4	105.3	22.1 ± 3.17	—
Liver weight (g)	0.80	1.22	1.08	0.40 ± 0.04	—
Incubation temperature (℃)	22	24	24	25	25
Conditions of the fish	Starved for a month			Fed(n=5)	Soon after feeding

Fig. 27. Released glucose levels into the incubation medium from isolated liver slices of the red sea bream.

があり，本検討結果から反応時間としては1時間以上をとるのが望ましいと判断された。

2．培養実験系の検討

1）組織代謝量の測定方法

組織培養フラスコを Fig. 28 に示した。このフラスコの内室には折りたたんだ沪紙を挿入し，外室には2.5ml のクレブス氏重炭酸緩衝液を入れた。秤量瓶には同じ緩衝液0.5ml を入れた。器具は培養液と共に氷で冷却しておき，組織標本を秤量した後，培養液と共に外室に流し入れた。

組織を入れて25℃15分間予備培養を行った。O_2 95%と CO_2 5%の混合ガスで空気を置換し，100μmol のグルコース（50μl）と，1μCi/ml ユニフォームラベルグルコース（100μl）を添加した。この^{14}C-グルコース添加時を反応開始時とし，1時間振盪培養した。正確に1時間経過後カテラン針を用い，内室に炭酸ガス吸収剤として Hyamine 10X (RAPKIN, 1961) を1.0ml，外室に 2N 塩酸 0.5ml を添加し反応を停止させた。この後3時間振盪培養を継続し，生成した炭酸ガスを完全に Hyamine10X に吸着させた。別に準備したガラスバイアルにインスタゲル（液体シンチレーションカウンター用カクテル）10ml を入れ，培養フラスコ中の Hyamine10X を溶かし，液体シンチレーションカウンターで測定した。用いた機種はパッカード社製3255型 TRI—CARB 液体シンチレーションスペクトロメーターである。

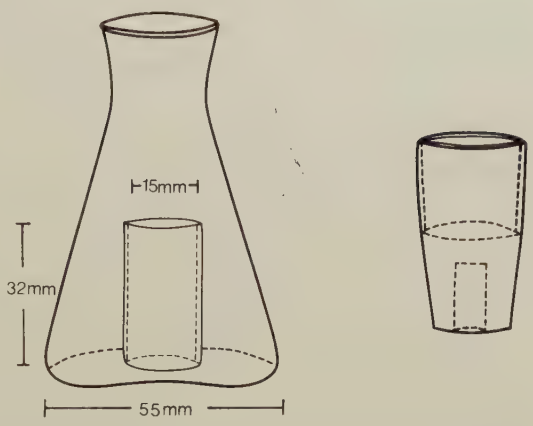


Fig. 28. Incubation flask and serum seal stopper.

2) 摘出組織の生存性

実験に使用する摘出組織標本の呼吸量を知るために，前述の培養条件で培養緩衝液中の^{14}C-グルコースからの^{14}C-炭酸ガス生成量を測定した。これらの条件と結果を Table 21 に示した。この結果によると肝臓スライス標本は用いた培養条件（1時間，25℃ 培養，100μmol グルコー

Table 21. Viability of isolated tissues expressed as $^{14}CO_2$ production from substrate glucose in the incubation medium.

No. of fish	Fork length (cm)	Body weight (g)	Incubation medium			Incorporation into $^{14}CO_2$ (dpm/g/h)			
			Buffer (ml)	Glucose (μmol)	Labelled glucose (μCi)	Liver slices	Adipose tissue	Muscle slices	Fin muscle tissues
1	13.6	46	3.0	0	0.5	6339	7899	149	—
2	15.0	73	3.0	100	1.0	7319	1198	26	—
3	13.1	47	3.0	100	1.0	4096	623	8	—
4	14.1	63	3.0	100	1.0	6489	4369	48	—
5	15.6	82	3.0	100	1.0	3698	1301	43	—
6	34.6	797	3.0	100	2.0	—	—	—	3811(R) 3676(L)
7	30.7	626	3.0	100	2.0	—	—	—	4131(R) 4848(L)
8	29.4	511	3.5	100	1.0	10150	1720	—	2501
9	26.0	354	3.5	100	1.0	9507	1259	—	3178
10	29.0	527	3.5	100	1.0	13087	1711	—	2792
11	27.3	372	3.5	100	1.0	8135	1573	—	3475
12	26.5	421	3.5	100	1.0	7814	760	—	2425

R; right pectoral fin muscle. L; left pectoral fin muscle.

ス，1μCi 標識グルコース添加）で測定に十分な炭酸ガス生成がみられること，および腹腔内脂肪も活発に炭酸ガスを生成していること，すなわち呼吸をしていることが明らかとなった。筋肉組織の体側白筋スライス標本では組織繊維に沿ってスライスしても，用いた実験条件では呼吸量が非常に少なく，正確な測定可能な値は得られなかった。一方，胸鰭筋肉は主として赤筋で筋繊維を切断することなく層状に剝離することができ，その呼吸量は比較的大きく，しかも左右胸鰭一対の筋肉の値はほぼ同じであった（Table 21）。石岡（1983）が推察したように，この筋肉は赤筋が大部分を占めているためと考えられる。ストレス反応のように緊急にエネルギーを動員し，利用する条件下での呼吸量を知るには，胸鰭骨上筋肉の方が有利であると判断された。個体差はいづれの組織標本の場合にも大きいので，実験系の中では同一個体の組織を対照標本として用いる必要があると考えられた。

3）同一個体組織の反応の定量性

魚類の肝臓スライス標本を用いた代謝研究はウナギ（Hayashi and Ooshiro 1975a），（Inui and Ishioka, 1983a, 1983b），その他の魚類で行われているが，筋肉組織の in vitro 実験への応用例は少ない。そこで組織の反応の定量性を知るために，胸鰭骨上剝離筋肉標本について炭酸ガス生成量と培養時間の関係を前述の方法（第Ⅱ章第1節2．1））で調べ，その結果を Fig. 29 に示した。炭酸ガス生成は培養開始後4時間までは直線的に行われた。

同一個体からの組織標本が多数得られる肝臓スライス標本を用いて，組織量と炭酸ガス生成量の関係を調べ，結果を Fig. 30 に示した。組織重量と炭酸ガス生成量の間には直線的関係が認められた。組織重量 700mg 程度までは基質量は 1μCi/100μmol で十分であることも確認された。

同じ個体からの肝臓スライス標本を用いて，基質グルコース濃度と炭酸ガス生成量，肝臓グリコーゲンへの取り込み量を調べ，その結果を Fig. 31 に示した。これらでは比放射能は 1μCi/100μmol としている。この図にみられるように 60μmol/ml 濃度までは，グルコース濃度と炭酸ガス生成量，グリコーゲンへの取り込み量は直線的関係にあるが，133μmol/ml ではこの直線からややはずれた。測定値の大きさと直線関係から32μmol/ml 程度のグルコース濃度で十分に測定可能であることが明らかとなった。

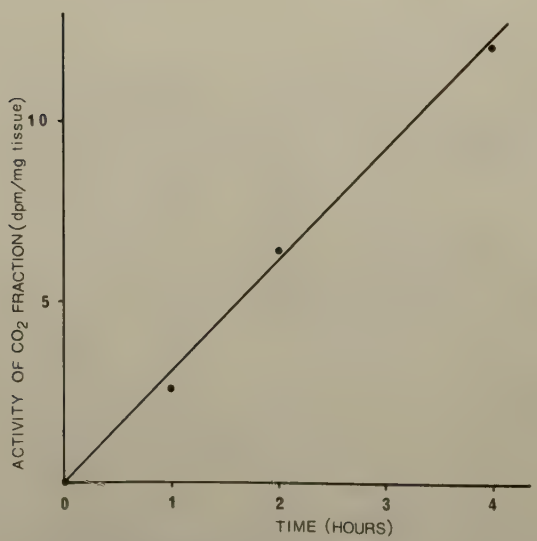


Fig. 29. Incorporation of U-^{14}C-glucose in the medium into $^{14}CO_2$ in isolated fin muscles of the red sea bream.

3．分析方法の検討

摘出組織標本を培養した後，組織のグリコーゲンと脂肪に取り込まれたグルコースの炭素骨格は，細谷・町谷（1971）の方法の一部変法で測定した。

^{14}C-グルコースの組織標本への総取り

込み量は，培養終了後の組織を蒸溜水で5秒間洗い付着した培養液を沪紙で取り除いた後，重量測定し，ついで組織融解剤 Protozol を加えて55℃で組織を溶解し，これに10mlのインスタゲルを加えて測定した。この時の組織量と組織の種類によるクエンチングを検討した。シンチレーション用バイアルに Protozol 1 ml を加え，重量測定した組織標本を入れ，55℃の恒温器で数時間かけて溶解した。その後バイアルに U-^{14}C-グリシン0.1ml (50μCi/50ml) を添加し，攪拌後インスタゲル10mlを加え，液体シンチレーションカウンターで測定し，結果を Table 22 に示した。Protozol 1 ml を用いた時は組織湿重量で100mgを越える試料では溶解が十分に行われないこと，着色程度は組織の種類によって異なり，数時間の反応では肝臓＞脂肪組織＞脳＞筋肉の順であり，クエンチングの大きさもそれに従うこと，ESR（外部線源比）を用いて補正することによって20%のクエンチングであれば補正が可能であることが明らかとなった。

液体シンチレーションカウンターで ^{14}C-100,000dpm 標準試料による計数効率を求め，ESR（外部線源比）と cpm より dpm 算出のための3次式を求めた。年に1回はこのチェックを行い3次式の定数を決定した。

基質に乳酸やアミノ酸を用いた時の肝臓スライス標本による糖新生量は次のように測定した。陰イオン交換樹脂 Dowex 1-X4, 100～200mesh, 陽イオン交換樹脂 Dowex50W-X8, 200～400mesh を準備した。陰イオン交換樹脂は 1M ギ酸ソ

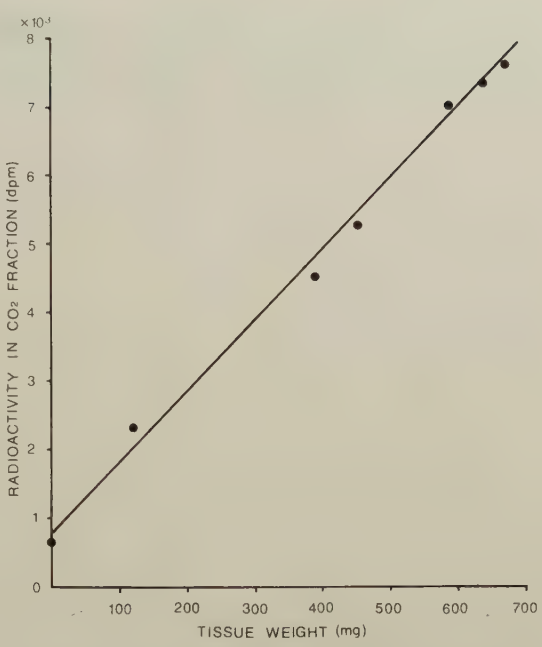


Fig. 30. The relationship between tissue weight and incorporation of U-^{14}C-glucose in the incubation medium into $^{14}CO_2$ in the isolated liver slices.

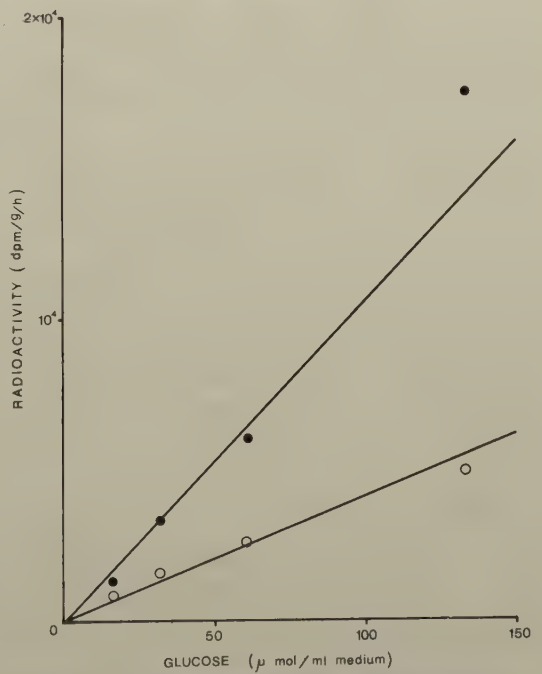


Fig. 31. The relationship between glucose concentration in the medium and U-^{14}C-glucose incorporation into $^{14}CO_2$ (●) and into glycogen (○) of liver slices of the red sea bream.

Table 22. Tissue digestion by Protozol.

Sample No.	Tissue	Weight (mg)	Incubation time(h)	Digestibility*	Coloring**	Rate of recovery (%)*** cpm	dpm
1	Liver	150.3	21	−	+++	81.7	98.1
2	〃	121.8	〃	+	+++	85.4	98.7
3	〃	171.8	〃	−	++++	83.4	97.8
4	〃	29.9	〃	+	++++	90.0	98.4
5	〃	31.3	〃	+	++++	90.9	98.4
6	Muscle	32.1	3	+	+	97.3	97.8
7	〃	133.0	〃	+	+	96.8	97.8
8	〃	160.6	〃	+	+	97.9	98.2
9	〃	351.1	21	−	+++	96.5	98.3
10	〃	67.9	3	+	+	97.0	97.9
11	Brain	24.7	3	+	+	97.0	98.4
12	〃	96.5	5	+	+	96.6	98.2
13	〃	167.2	5	+	++	93.8	98.3
14		379.3	21	−	+++	93.5	98.5
15	〃	197.2	〃	+	+++	93.0	98.2
16	Adipose tissue	23.7	5	+	++	92.1	98.5
17	〃	24.1	3	+	+	95.7	97.4
18	〃	81.4	5	+	++	94.0	97.9
19	Blank		21			100.0	100.0

*; +: Completely digested. −: Partially digested.

**; Coloring increases with the number of "+".

***; The rate of recovery was calculated as (cpm of measured samples/cpm of added U-^{14}C-glycine) ×100 and as (dpm of measured samples/dpm of added ^{14}C-glycine) ×100.

ーダ溶液を流し Cl^- 型を $HCHO^-$ 型に変換し，陽イオン交換樹脂は 2N 食塩水で洗滌した後，2N 塩酸を流し H^+ 型とした。乳酸基質の場合には上層 4 cmの Dowex1-X4，下層 2 cmの Dowex 50W-X8，経0.8cmの二重カラム，アミノ酸基質の場合には下層 2 cm Dowex1-X4，上層 4 cmの Dowex50W-X8，経0.8cmの２重カラムとする。これに一定量の培養緩衝液を加え，蒸溜水で洗滌し流出したものを 5 ml の定容とし，その 1 ml をバイアルに入れ液体シンチレーションカウンターで測定し，グルコース区分とした。カラムは，セパコール・ミニ（生化学工業 KK）を用いた。

4．実験マニュアル

上述の検討結果より下記の実験マニュアルを作製した。ここではグルコースを基質とした場合を示したが乳酸やアミノ酸を基質とした場合もこの原則に準じて行った。

(a)ゴム栓付き三角フラスコ（20ml～30ml）と内室付三角フラスコ（Fig. 28）にそれぞれ 3 ml のクレブス氏重炭酸緩衝液を入れ，内室付きフラスコの外室には，100μmol グルコース50μl と 1μCi の U-^{14}C-グルコース（100μl）を添加する。これらに O_2 95%と CO_2 5%混合ガスを吹き込んで25℃で予備加温をする。内室付き三角フラスコの内室には折りたたんだ沪紙を入れ秤量ビンには同一緩衝液を 0.5ml とり，重量を測定し氷で冷却しておく。

(b)生鮮組織標本を作製し，緩衝液入り秤量瓶に入れておく。全部の組織標本作製の完了後，これを緩衝液共々三角フラスコに流し入れ，1試料毎に時間を測定しながら15分間の予備振盪培養を行う。

(c)組織標本は沪紙で付着水分を除いた後，これを内室付き三角フラスコの外室に入れ，O_2 95%，CO_2 5%混合ガスを吹き込み，直ちに培養を開始する。正確に2分間毎にフラスコ1本づつを処理する。

(d)25℃で1時間の振盪培養を行う。

(e)1時間後あらかじめ準備した1 ml の Hyamine 10X 液をカテラン針付きの注射筒で内室に，0.5mlの 2N 塩酸を外室に入れ，反応を停止させる。2N 塩酸添加時は正確に1時間後とする。

(f)さらに振盪培養を3時間続け生成した炭酸ガスを Hyamine 10X に完全に吸着させる。

(g)インスタゲル（シンチレーター）10ml を入れた測定バイアルに，内室の Hyamine 10X と沪紙をインスタゲルで洗い入れ，液体シンチレーションカウンター（パッカード社3255型 TRI—CARB）で測定する（CO_2 区分）。

(h)蒸溜水で5秒間洗った培養組織片を3片に分け，沪紙で水分を除いた後それぞれ化学天秤で重量を測定する。

(i)秤量した組織片は20倍量の Folch の液（Folch et al. 1957）を入れたホモジナイザーに入れ，ホモジナイズする。

(j)ホモジナイズした組織は Folch液 0.5ml×2回で遠沈管に洗い入れ，3,000rpm×10分間遠沈を行う。上澄液はグラスウールで沪過し目盛付遠沈管に入れ残査洗液（Folch 液）と共に定量的に5 mlとする。これに1/5容の蒸溜水を加え洗浄し3,000rpm×10分間の遠沈を行う。上層を除去した後，下層に theoretical-upper layer 1/5容を加えて洗浄し，3,000rpm×10分間の遠沈を行う。この操作を2回くりかえす。最後の上澄液除去の前に下層の容量を読み取り，上澄液を十分に除去する。下層の1.0ml を採取し，カウントバイアルに入れ，ホットプレート上で溶媒を除去し，これにインスタゲル 10ml を加えて液体シンチレーションカウンターで測定する（脂肪区分）。

(k)秤量した組織を30%水酸化カリウム溶液 2.0ml に入れ液化するまで沸騰水中で処理し，5 mlの95%エタノール溶液を加え十分に混和し，再び加熱し，わずかに沸騰しはじめたら直ちに放冷し，3,000rpm で30分間遠沈する。上澄液を捨て，沈澱に蒸溜水2 ml を加え，数分間加熱後30%水酸化カリウム溶液1滴と 3 ml 95%エタノール溶液を加え混和し，加熱沸騰させた後室温に放冷する。10分間 3,000rpm で遠沈し上澄液を捨てる。この操作は二度くり返す。

(l)沈澱を0.5ml の蒸溜水に溶かし，10ml のインスタゲルを入れた測定バイアルに加え，さらに遠沈管を0.5ml の蒸溜水で洗い，これもバイアルに加えて，液体シンチレーションカウンターで測定する。（グリコーゲン区分）

(m)秤量した約50mgの組織片をバイアルに入れ組織融解剤 Protozol を1 ml 加え，55℃の恒温器に2～3時間温置する。組織が完全に溶解したのを確認した後，10mlインスタゲルを加えて液体シンチレーションカウンターで測定する（組織総取り込み量）。

第2節　飢餓魚の摘出組織標本におけるグルコースの代謝

魚類の絶食時の血液性状や体成分などの変化については，主に養殖魚コイ（竹内他1969，NAGAI and IKEDA 1971a），ウナギ（SANO 1962, INUI and OHSHIMA 1966），ニジマス（柴田他1974，新間他1976），ハマチ（藤谷・塚原1969，坂口・浜口1976）などで調べられている。マダイについては，SAKAMOTO et al.（1978），SAKAMOTO and YONE（1978），坂口・浜口（1981），WOO and MURAT（1981）によって飢餓時の魚体成分，内臓の化学成分や重量，血液性状とその化学成分についての報告がある。それらの結果には多少の相違は認められるが長期の飢餓が体成分や血液性状に影響を与えている点では一致しており，このことは代謝の様相が大きく変化していることを示唆している。特に NAGAI and IKEDA（1971a）はこの点に焦点をあてた研究を展開し，飢餓がエネルギー代謝の様相を大きく変えていることを報告した。

ストレス反応は，代謝の観点からみると，第1章に述べた血糖値の増加にみられるような，急激なエネルギー動員の反応である。このストレス反応が飢餓時のように魚の代謝系の様相に変動がある時にどのような影響を受けるのかを考察するためには，飢餓時と平常時におけるグルコース利用の様相を比較することが大切である。本節では，各種組織標本で in vitro 実験系を用いてエネルギー代謝の中心となるグルコースの利用を調べた。

1．実験条件

供試魚は，1980年種苗生産されその後養殖されたマダイ2年魚を用いた。1981年5月25日養殖場から船舶により研究室に輸送し，1トンのコンクリート水槽に収容後流海水で約2カ月間投餌せずに飼育した個体を飢餓区とし，この間，毎日2回生ガキを与えて飼育した魚を対照区とした。飼育水温は15.1℃～24.7℃の間の自然水温であり，温度上昇時期にあった。

グルコースの炭酸ガスへの転換量，組織への総取り込み量，グリコーゲンへの転換量は第1節に述べた方法によって測定した。

2．実験結果

約2カ月後の魚体計測値を Table 23 に示した。温度上昇期2カ月間の飢餓はマダイの成長に大きな影響を与えた。飢餓区は，尾叉長は増加せず，体重は減少した。肥満度は有意に減少し，肝臓の対体重比も有意に減少し，対照区の約1/2に低下し，飢餓の影響は肝臓に強く現われた。

Table 23. Body conditions of the red sea bream after 2-month-starvation (mean±s.d. n=10).

Treatment	Fork length (cm)	Body weight (g)	Hepato-somatic[1] index	Condition[2] factor
Before starvation	11.4±0.69	30.2±5.68	—	—
Fed for 2 months[3]	14.0±1.43	58.7±20.75	1.40±0.53	2.04±0.29
Starved for 2 months	11.7±0.69*	25.8±6.10*	0.72±0.23*	1.58±0.09*

1) ; Hepato-somatic index = 100 × (liver weight/Body weight).
2) ; Condition factor = 100 × (Body weight) / (Fork length)^3.
3) ; Fish was fed raw oyster pieces twice a day.
* ; Significantly different from fed group. ($p \leqq 0.05$).

Table 24. Effect of starvation on the utilization of U-^{14}C-glucose in the incubation medium by isolated tissue samples. (mean±s.d.) (n)

Tissue	Fraction	Radioactivity (dpm/mg tissue/h)	
		Fed (Control)	Starved
Liver	CO_2	5.35±1.873 (10)	8.29±1.648* (8)
	Tissue incorporation	63.34±26.978 (10)	52.62±19.147 (9)
	Glycogen	1.90±1.077 (10)	2.87±2.052 (10)
Trunk muscle	CO_2	0.042±0.025 (8)	0.064±0.026 (7)
	Tissue incorporation	49.04±19.545 (10)	59.42±39.695 (9)
	Glycogen	0.054±0.034 (10)	0.030±0.017 (9)
Adipose tissue	CO_2	1.78±1.15 (9)	3.27±0.99* (8)
	Tissue incorporation	19.62±7.200 (8)	29.26±24.604 (10)

*; Significantly different from controls ($p \leq 0.05$).

培養液中のグルコースの取り込みと利用を標識グルコースで調べた結果を Table 24 に示した。本結果では個体差は非常に大きいが，対照区と飢餓区ではグルコースの利用に相違のあることが明らかとなった。両区で最も顕著な点は炭酸ガス生成量である。グルコースからの炭酸ガス生成量は肝臓組織＞腹腔内脂肪組織＞白筋の順に小さくなり，特に白筋組織で小さい。飢餓区の肝臓組織では対照区の約155%に，腹腔内脂肪組織では184%にも炭酸ガス生成量が有意に増加した。白筋においては個体差が大きく有意差は認められなかったが，増加傾向がうかがわれた。

グルコースの組織への総取り込み量は，対照区では肝臓への取り込みが非常に大きく，次いで白筋となり，腹腔内脂肪組織への取り込みが最も小さかった。飢餓区での平均値は白筋＞肝臓＞脂肪組織の順であるが両区とも個体差が大きく有意差は認められなかった。

グルコースの組織内グリコーゲンへの転換は肝臓で大きい。白筋においても肝臓の約1/40の蓄積が認められた。飢餓区の肝グリコーゲンへの取り込みは対照区より大きいが個体差も大きく，対照区と飢餓区の差は認められなかった。

3. 考　察

1) 飢餓時の計測学的変動

魚類は摂餌しなくても長期間生存することができるため古くから飢餓に関しては興味が持たれ，多くの飢餓実験が行われてきた（Love 1970, Love 1980）。これらの研究の大部分は飢餓期間中の魚体計測値と血液や体成分の変動に関するものであるが，得られた結果は魚種，飼育水温，発育段階，実験開始前の栄養条件等によって異なり，統一的な規則性は得られていない。大まかにみれば，共通な現象としてどの魚種に関しても体重および肝臓重量の減少がみられる。淡水魚については，コイで Nagai and Ikeda (1971a) は15～25 g の魚の101日間の絶食で15%の体重減少

を報告し，示野(1974)も体重約48gの魚体の21日間の絶食で体重と肝臓重量の減少を報告している。この他コイ（竹内他1969），ニジマス（金子他1966，新間他1976），ウナギ（Inui and Ohshima 1966, Inui and Yokote 1974）でも同じ結果が報告された。海産魚についてはハマチで藤谷・塚原（1969），示野（1974），坂口（1976）が，Woo and Cheung (1980) は *Ophiocephalus maculatus* で同様の結果を報告した。

マダイに関しては Sakamoto et al. (1978) が野生魚（体重約60g）を90日間絶食させた時，坂口・浜口（1981）が約270g体重魚を冬期，自然水温と加温条件で飢餓試験を行った時，Woo and Murat (1981) が13℃で160日間絶食をさせた時の体重や肝体重比の変化を報告している。これらの結果は絶食期間と水温（季節）によりその影響の大きさは異なるが，長期飢餓時には同様な傾向を示し，肝体重比の減少が認められ，肝臓が栄養貯臓器官としても重要な役割を持つことを示している。本研究（Table 23）でも水温上昇期2カ月間の絶食で肝体重比は半減し，体重の減少を考えあわせると供試飢餓魚は飢餓の進んだ段階にあると考えてよい。

2) 飢餓時の化学成分の変動

魚類の飢餓試験で測定されたその他の項目は，体成分組成（竹内・石井 1969，新間他 1976, Nagai and Ikeda 1971a, Inui and Ohshima 1966, Inui and Egusa 1967, Sakamoto et al. 1978, 坂口 1976，坂口・浜口 1981，藤谷・塚原 1969，Inui and Yokote 1974，示野 1974，Woo and Cheung 1980, Woo and Murat 1981）と血液性状や血液成分（柴田他1974，Sano 1962, Nagai and Ikeda 1971a, Sakamoto and Yone 1978，坂口 1976，坂口・浜口 1981，藤谷・塚原 1969，Inui and Yokote 1974，示野 1974）と多いが，本研究に関係のある観点からの報告例は少ない。

炭水化物代謝に関連ある成分としては血糖，肝臓や筋肉のグリコーゲン，血漿アミノ酸，肝臓や筋肉の脂肪，肝臓の GOT, GPT 等酵素活性が調べられている。ニジマスでは柴田他（1974）は55日間の飢餓で血糖はほとんど変動せず，血漿トリグリセリドや血漿遊離脂肪酸は増加傾向にあることを報告し，新間他（1976）も同様の結果と肝臓グリコーゲン，遊離脂肪酸，トリグリセリドは大きくは変動しないと報告した。コイでは竹内・石井（1969）は冬期絶食期間中に筋肉および肝臓のグリコーゲンとトリグリセリドが減少したとし，Nagai and Ikeda (1971) は101日間の絶食で血糖と肝臓グリコーゲン量の低下をみているが22日までは両成分の減少傾向を認めていない。示野（1974）は21日間の絶食で血糖値，肝臓グリコーゲン量は餌料投与魚との間に有意差は生じなかったとした。ウナギでは Sano (1962) が90日間の絶食で血糖値の実験開始時の165mg/dlから49.3mg/dlへの低下を報告しているが，開始時の値が他の諸報告の値に比べて高いことから，取り扱いストレスの影響があったと考えた方がよい。もし取り扱い条件が同一とすれば，彼の報告は飢餓がストレス反応の大きさに影響を与えたことを示唆するものとして興味深い。Inui and Yokote (1974) は90日間の絶食で血糖値の変動はなく，肝臓グリコーゲンは減少した後ゆるやかに増加する動態を示しこの時，肝臓の GOT および GPT 活性と血漿アミノ酸量が増加すること，肝臓脂肪はゆるやかな減少傾向を示すことなどから，体蛋白質由来のアミノ酸からの糖新生系が中心となって血糖が維持されると推測した。異体類の *Pleuronectes platessa* で Johns-

TON and GOLDSPINK (1973), PATTERSON et al. (1974) は7.5℃, 14週間の飢餓時の赤筋と白筋のグリコーゲン, 脂質, 蛋白質, 水分量を調べ, 水分量以外の成分は絶食期間が長びくと減少するが, その動態は赤筋と白筋で異なると報告した。WOO and CHEUNG (1980) は *Ophiocephalus maculatus* で, 長期飢餓時に血糖値は減少し, 肝臓グリコーゲンも減少しているが筋肉のグリコーゲン減少はみられなかったとしている。この肝臓の蛋白質の減少は著しい。ハマチでは坂口(1976)が50日間の飢餓で肝臓グリコーゲンが著しく減少したとし, 示野 (1974) は3日間の絶食で血糖も肝臓グリコーゲンも有意に低下しその後は安定した値を示すとし, この時の肝臓の糖代謝系の酵素の動態が基本的にはコイの場合と類似したという。マダイでは SAKAMOTO and YONE (1978) が30日間の絶食で血糖の変動を認めず, 坂口・浜口 (1981) も血糖値は絶食期間中自然水温区ではほとんど変動しないが加温区では25日以上の絶食でやや低下し, 肝臓グリコーゲンの減少は著しかったと述べている。WOO and MURAT (1981) は低温時, 絶食後期に肝臓や筋肉のグリコーゲンが減少し, 筋肉蛋白質の減少とともに肝臓の GOT, GPT 活性が上昇したと報告した。

これらの報告は多少の相違はあるものの, 血糖値はやや低い値で安定すること, 脂肪, グリコーゲン, 蛋白質量の減少と, その中間代謝物量の変動を示しており, 池田 (1979) がまとめたように魚類における絶食時の肝臓における糖新生を示唆している。

3) 飢餓時のグルコース利用

上述の現象は魚類のエネルギー代謝の一側面を in vivo 系で調べたものであり, 血糖の恒常的維持に論議が集中しておりその利用については触れられていない。血液中のグルコースは魚体全組織に於てエネルギー産生を行うために利用され, 最終的には水と炭酸ガスとして排泄される。本実験のように十分な酸素が与えられた条件下では, グルコースはクエン酸回路を経て酸化される。本実験では, 肝臓, 筋肉, 腹腔内脂肪の呼吸により培養液中に十分に存在する標識グルコースから産生される炭酸ガス量に飢餓の影響が強くみとめられた。Table 23 に示した飢餓魚の肝臓では, 生鮮組織単位重量あたりの炭酸ガス生成量は有意に大きい。LOVE (1980) は, コイの4カ月と12カ月の飢餓で肝細胞が収縮し核が凝集してゆく組織像を紹介し, 単位重量あたりの細胞数増加を報告し, さらにグリコーゲンの絶食による消失像を紹介している。同じ現象をウナギについて INUI and EGUSA (1967) が101日の絶食の結果として報告している。これら諸報告と肝臓重量や組織の色調から考えると本実験結果は飢餓により貯蔵物質量が減少したために呼吸活性物質のみが残り, 単位重量あたりの炭酸ガス生成量値が高くなったためと考えられる。肝臓以外の白筋組織や腹腔内脂肪組織も貯蔵組織としての機能を持っているから, 単位重量あたりの呼吸量の増加は当然予想されるところであり, 腹腔内脂肪の炭酸ガス生成量にも有意差が認められた。これは貯蔵機能の大きさに依存するところが大きいことを示唆している。

炭酸ガス産生に関して飢餓によって各組織の炭酸ガス生成割合が変化するか否かをみるため, 同一個体の肝臓, 筋肉, 腹腔内脂肪の炭酸ガス成分の放射能 (dpm) の合計値を100%とし相対比を算出した。白筋の炭酸ガス生産割合(%)は摂餌区と飢餓区でそれぞれ0.55±0.38 (平均値±標準偏差) %と0.56±0.26%で差はみられなかった。肝臓では79.1±10.19%と 70.0± 4.08%で減少が, 腹腔内脂肪では20.4%±10.21と 29.4± 4.13%で増加の傾向がみられた。炭酸ガス生成

量が組織の内呼吸の大きさを示しているとすれば，飢餓のこの段階では腹腔内脂肪動員が相対的に大きいことを示すものであろう。

個体の肝臓重量あたりの炭酸ガス生成量をみると，摂餌魚で5552.8±4628.3dpm/肝臓，絶食魚で1462.5±558.4/肝臓であり，明らかに摂餌魚の¼に減じている。また，1個体1肝臓あたりのグリコーゲンへの転換は，摂餌魚で1855.9±525.1dpm/肝臓（n＝8）絶食魚で544.9±539.2dpm/肝臓（n=10）となり，グリコーゲンへの取り込み量も有意に減少している。また組織への取り込み量も，絶食後には明らかに減少している。これらのことは，飢餓時にはグルコースのエネルギーとしての利用だけでなく，肝臓全体としての代謝機能が低下していることを示すものであろう。

腹腔内脂肪組織に関しては実験操作上短時間で全腹腔内脂肪組織量を測定することが困難であるので肝臓の場合のような計算はできないが，約2倍の炭酸ガス生成量があったとしても（Table 24）細胞当りの呼吸量は必らずしも増加しているとはいえない。筋肉組織に関しては，飢餓魚における炭酸ガス生成量は対照魚の150%しかなく炭酸ガス生成量に有意差は認められなかったが，体重減少が大きいところから筋肉部分全体としの呼吸量は低下していることが予想される。本実験の飢餓の段階においてはマダイの組織はエネルギー源物質の減少に対応して適応的に呼吸量の低下（エネルギー生産の減少）を起しているものと考えられる。

この組織の代謝機能の低下は魚類が長期飢餓に耐え得ることの説明にもなろう。飢餓時の酸素消費量の低下は *Gadus morhua*（Saunders 1963），*Ophiocephalus maculatus*（Woo and Cheung 1980）で認められているが，これらは飢餓の一段階では個体の代謝機能の低下が起ることを裏づけるものであろう。

飢餓時には絶食開始時と比べて低血糖を示すという報告が多い（柴田他 1974，Sano 1962，Nagai and Ikeda 1971，示野 1974，Woo and Cheung 1980）。また肝臓や筋肉中のグリコーゲンも前述のように減少している。このことは魚体全体としては急激に動員し得るエネルギー源物質が枯渇していることを意味している。

本研究結果から飢餓時には存在する基質量に対応した代謝が営なまれ代謝機能が全体的に低下すると考えられるが，これは第Ⅰ章で明らかになったストレス時の共通的な反応である血糖増加の速度や反応の大きさを大きく変えるものと予想させる。

第3節　摘出組織標本からのグルコースおよび脂肪酸遊離におよぼす各種ホルモンの影響

魚類においても，ストレス反応時，血中エピネフリンやコーチゾール等のホルモン量の増加と血液中グルコース量の増加があることはよく知られている。魚類のストレス反応時の血中グルコース量増加は肝臓グリコーゲンに由来すると Demaël et Garin（1974，1978）は述べているが，グルコースがこれらのホルモンによって肝臓よりどのように遊離されるのか，また，肝臓やその他の組織からの脂肪酸の遊離がホルモンによって制御されるのかどうかを知ることはストレス反応時の代謝機構を明らかにするために重要なことである。ホルモンと血中グルコース量増加の関係は主に in vivo 系の実験で観察されてきた。しかし，魚類の場合には，第1章第5節（石岡 1984a）の報告にみられるように，in vivo 実験に際しての種々な“取り扱い”が強いストレッ

サーとなり，血中グルコース量増加などの症状をひき起こすので in vivo 実験系によるホルモン固有の作用機構の解析は容易でない。

そのため，本節では摘出しスライスした肝臓，筋肉，腹腔内脂肪組織標本を用いて，エピネフリン，グルカゴン，コーチゾール，インスリンが，グルコースおよび脂肪酸を遊離する効果について in vitro 実験系で調べた。その結果を報告する。

1. 実験条件

供試魚の尾叉長，体重，肝臓重量は平均値±標準偏差でそれぞれ28.8±1.78cm，479.9±81.19 g，5.25±2.22 g であった。

組織標本は氷冷したカルシウム不含クレブス氏緩衝液中に保存した後，培養緩衝液に入れ実験に供したが，脂肪組織標本は氷冷の取り扱いを行わなかった。1回の実験では1個体の各組織標本の対照区と処理区を同一条件で同時に扱った。

培養方法：培養液は肝臓からのグルコース遊離実験にはクレブス氏重炭酸緩衝液（pH 7.4)を，脂肪酸遊離実験にはクレブス氏燐酸緩衝液（pH 7.4）を用いた。20ml ゴム栓付きフラスコに緩衝液を3 ml づつ分注し，エピネフリン（30μg），グルカゴン（50μg），コーチゾール（30μg），インスリン（30μg）をそれぞれ添加した。用いたホルモンはいづれも Sigme 社の(-) Epimephrime No.E-4250, Glucagon No.G-4250, Hydrocortisone No. H-4001, Insulin No. I-5500 であった。対照区は緩衝液のみを加えた。

組織標本は25℃の緩衝液中で15分間予備培養を行った後，0.2～0.5 g の範囲で組織片を取り上げ，培養フラスコに入れ，酸素95%炭酸ガス5%を吹き込みながら，クレブス氏重炭酸緩衝液中の組織標本は1時間，クレブス氏燐酸緩衝液中の組織標本は3時間の振盪培養を行った。所定時間後，培養フラスコを氷水中に入れて反応を停止させ，直ちに中の組織片を取り除いた。重炭酸緩衝液は遊離グルコース量の定量に供した。燐酸緩衝液中の取り出した組織片は重量測定後，緩衝液と共に遊離脂肪酸の定量に供した。

分析方法：グルコースの定量は酵素法によった（藤沢メディカル：ニューグルコスタット,「フジサワ」)。

脂肪酸定量は重量測定後の組織標本を Dole 試薬でホモジナイズし，培養緩衝液と合わせ，50 ml の遠沈管に移した後，Dole 液で抽出し，Trout et al. (1960) の方法により行った。

2. 実験結果

重炭酸緩衝液中の肝臓組織標本からのグルコース遊離の結果を Table 25 に示した。対照区（100%とする）に対してエピネフリン添加は171.3%，グルカゴン添加は165.7%とグルコース遊離量の増加を起こした。これに対して，コーチゾールは93.3%，インスリンは86.8%となり，明らかに肝臓からのグルコース遊離を抑制する効果が認められた。in vitro 実験系へのホルモンの添加は肝臓組織からのグルコース遊離に影響を与えることが明らかとなった。

リン酸緩衝液中の肝臓，筋肉，脂肪組織からの脂肪酸遊離の結果を対照区に対する%値で Table 26に示した。この値からみると個体差が大きく，どの組織でもエピネフリン，グルカゴン，インスリンには統計的に有意な効果は認められなかった。コーチゾールは肝臓における脂肪

Table 25. The effects of epinephrine, glucagon, cortisol and insulin on the glucose release from the sliced liver samples of the red sea bream in Kreb's bicarbonate ringer solution.

Fish number	Released glucose (mg/h/g tissue)				
	Control	Epinephrine (10μg/ml)	Glucagon (17μg/ml)	Cortisol (10μg/ml)	Insulin (10μg/ml)
1	5.74	6.64	6.30	5.17	4.82
2	5.77	9.34	9.30	5.61	4.43
3	10.46	14.32	14.34	9.93	8.69
4	6.27	15.00	13.54	5.56	5.76
5	8.81	13.97	12.80	7.83	6.71
6	8.47	10.59	9.14	8.20	7.36
7	7.53	8.79	9.43	7.80	7.17
8	0.53	0.63	0.75	0.50	0.65
9	6.94	14.76	15.60	4.99	4.88
10	2.73	8.95	7.87	2.92	2.22
Ratio to controls (%) (mean±s.e.)	100.0	171.3±21.92*	165.7±18.56*	93.3±3.04**	86.8±4.62*

*; Significantly different from controls ($p \leqq 0.01$).
**; Significantly different from controls ($p \leqq 0.05$).

Table 26. The effects of epinephrine, glucagon, cortisol and insulin on free fatty acid release from isolated tissues of the red sea bream. The values are expressed as % to control values (mean±s.d.). (n)

Tissue	Epinephrine (10μg/ml)	Glucagon (17μg/ml)	Cortisol (10μg/ml)	Insulin (10μg/ml)
Liver	118.8±25.24 (8)	113.2±22.09 (6)	116.9±13.76* (7)	119.3±40.89 (7)
Adipose tissue	103.9±25.12 (8)	109.4±36.63 (8)	100.1±22.07 (8)	90.5±18.24 (8)
Fin muscle	110.2±13.58 (8)	116.6±28.33 (7)	112.7±24.59 (6)	119.4±26.71 (8)

*; Significantly different from controls ($p \leqq 0.05$).

酸遊離を増加させる傾向があるようにみえた。しかし値のばらつきからみて，実験例数をさらに増加してみる必要があろう。統計的に有意ではないが，平均値で比較するとホルモンによる脂肪組織からの脂肪酸遊離は肝臓や筋肉からのそれよりも，小さな値を示した。

3. 考　察

魚類の物質代謝におけるホルモンの作用機構に関する研究は哺乳動物に比べて遅れている。その理由の一つは各魚種のホルモンの化学的構造と活性の種特異性にあると考えられる。本実験で用いたホルモンのうちグルカゴンとインスリンは蛋白性ホルモンで，哺乳類から抽出されたものであり，魚類のものとは化学的構成に違いがある。コーチゾールは多くの硬骨魚の血液中に存在する主たる corticosteroid であることが確認されており，この種の実験によく用いられている。マダイの血液のジクロルメタン抽出物の中にコーチゾールが存在することは薄層クロマトグラフ

で確認されている(石岡・石岡, 1978)。エピネフリンについては NAKANO and TOMLINSON (1967) がサケ科魚類で哺乳類のものと同一であることを確認し，ストレス時の血液中エピネフリン量の変動に関する報告もみられる (MAZEAUD et al. 1977)。

マダイにストレスを与えた時，条件によっては短時間のうちに高血糖を起すことが本研究第1章で明らかにされた。本節では血糖上昇に与えるホルモンの影響を知るための実験を行ったが，この結果を他魚種での報告と比較検討し，それぞれの作用の特徴を明らかにしたい。

1) エピネフリン

エピネフリンの炭水化物代謝に与える影響については in vivo 実験でエピネフリンを投与した後の血液中のグルコース量増加の報告例が多い。Table 27 にこれをまとめた。これらの諸報告は，エピネフリンが，円口類から板鰓類，硬骨魚類に至る魚類で血糖上昇を起こすことを示しており，この血糖上昇の程度と持続時間や経時変化パターンは投与量や温度との関係が大きいことを示唆している。血糖上昇はエピネフリン投与後速やかに始まる点は共通しており，投与後15分で明瞭な血糖上昇がみられる場合すらある。

魚類の in vitro 実験における肝臓からのグルコース遊離に関してはウナギで HAYASHI and OOSHIRO (1975a, b) が0.5mM のエピネフリンが60分間で対照値の約2倍のグルコースを遊離させたと報告し，ウナギの灌流肝を用いた実験でも，エピネフリン10^{-2}mM の添加は顕著なグルコ

Table 27. Effect of epinephrine to the elevation of blood glucose level of the fish

Fish	Administration method	Dose mg/KgB.W.	Temp. ℃	Elapsed time(h)	Response*	Author
Lampetra fluviatilis	Intraperitoneal injection	0.2	Winter	1	+	Bentley & Follett (1965)
Scyliorhinus stellaris	Intraaortic infusion	0.025	—	0.5	+	DeRoos & DeRoos (1978)
		0.05	—	0.5	+	〃
		0.075	—	0.5	+	〃
Squalus acanthias	〃	0.075	—	0.25	+	〃
Salmo gairdneri	Muscle injection	0.5	12	5	+	Perrier et al. (1971)
	Intraperitoneal injection		14	1	+	Morata et al. (1982)
Esox lucius	Intraventricle infusion	0.05	10-15	0.5	+	Thorpe & Ince (1974)
		1.0	〃	〃	+	〃
		5.0	〃	〃	+	〃
Cyprinus carpio	Intraperitoneal injection	0.1	20	1	+	Mazeaud (1964)
	〃	1.0	16	1	+	Murat (1976)
	〃	1.0	6	1	+	Murat & Serfaty (1975)
		1.0	20	1	+	〃
		1.0	30	1	+	〃
Anguilla anguilla	Intraperitoneal injection	0.5	12	1	+	Larsson (1973)
		5.0	12	1	+	〃
	Intraventricle infusion	0.025	15-18	0.25	+	Ince & Thorpe (1977)
		0.05	〃	〃	+	〃

*; Significantly higher than control values.

ース遊離を起こしたと報告している。UMMINGER and BENZIGER (1975) は *Ictalurus nebulosus* の肝臓組織片は20μg mlのエピネフリンを加えた時，30分間後にグルコース遊離を増大させると報告した。BIRNBAUM et al. (1976) はキンギョの遊離肝細胞で 0.05μM のエピネフリンが2時間にわたってグルコース遊離を直線的に増大させ続けると報告している。

このグルコース遊離に関するエピネフリンの効果は in vivo 実験系と in vitro 実験系で同一の傾向を示している。今回のマダイの肝臓スライス標本についても，個体差は大きいが，10μg/mlのエピネフリンはグルコース遊離を促進する効果を持つことを示した。

エピネフリンの脂肪酸動員作用に関する報告例は少なく，今回のマダイ実験結果のように顕著な効果のみられなかった例もある。FARKAS (1967) はコイに 2 mg/尾のエピネフリンを注射した後2時間して血液および腹腔内脂肪の遊離脂肪酸量の増加は認められなかったとしており，腹腔内脂肪を用いた in vitro 実験でも，エピネフリンによる脂肪酸遊離の効果は認められなかったとし，hormone sensitive lipase が存在しないのではないかと推論している。LÅRSSON (1973) はウナギに5 mg/kgの多量注射では，1時間から24時間以上にわたる高脂肪酸血症を報告した。MINICK and CHAVIN (1973) はキンギョに10μg/kg体重のエピネフリンを筋注した後15分後血清脂肪酸の低下を報告し，INCE and THORPE (1975) は *Esox lucius* で血管カニューレからエピネフリン0.05mg/kg体重を注入して血液中遊離脂肪酸の低下を報告した。このようなエピネフリンの血漿遊離脂肪酸量に対する相反する効果が得られた理由は明らかではない。

本実験で用いたエピネフリン濃度は各魚種の in vitro 実験例で用いられた濃度の範囲内にあるが，魚の生理学的攪乱時にみられる血中濃度よりは高い値である (MAZEAUD et al. 1977)。また，反応時間は1時間および3時間で，in vivo 実験で行われるような長時間ではないがストレス時には反応を起こし得る時間である。Table 26 の結果からみても，魚類ではエピネフリンはグルコース遊離には強い作用を持つが，短時間のうちに脂肪酸を動員する効果はないのではないかと考えられる。

2) グルカゴン

グルカゴンに関して，魚類での研究はあまり進んでいない。EPPLE (1969) は魚類におけるグルカゴン存在の報告をまとめ，哺乳類グルカゴンの魚類に対する効果を総括しているが，その作用は未だ明確でないとしている。このホルモンは種特異性がかなり高いが，一般的には哺乳動物のグルカゴン投与で魚は血糖上昇を起こすとされている。THORPE and INCE (1974) は *Esox lucius* で1 mg/kg，2 mg/kgの哺乳類グルカゴンの動脈内注入によって，血糖上昇を観察したが，血漿アミノ酸，コレステロールには変動をみていない。また彼ら (1977) はウナギ *Anguille anguilla* に同じ処理をして15分後に最大血糖上昇を観察した。UMMINGER et al. (1975) は *Fundulus heteroclitus* を用いた in vitro 実験でグルカゴンが肝臓のグリコーゲン・フォスフォリラーゼ活性の減衰を抑制することを確認し，このホルモンがグリコーゲン分解に大きく関与することを報告している。また CHAN and WOO (1978 a), INUI and YOKOTE (1977) はウナギで0.1 mg/kgの筋注，50～500μg/kg腹腔内注射で有意な血糖上昇を観察した。CARNEIRO and AMARAL (1983) は *Pimelodus maculatus* で2.5mg/kgのグルカゴン腹腔内注射が15分後の有意な血糖上昇

を起こしたとしている。これらは哺乳類のグルカゴンが硬骨魚類で血糖上昇作用を有することを示しているが，板鰓類に関しては Bentley and Follett (1965)，Murat and Plisetskaya (1977)によるとこの作用はみられない。

グルカゴンの作用は硬骨魚類の場合反応速度や血糖上昇の大きさではエピネフリンと類似している。本実験で哺乳類グルカゴンによるマダイ肝臓スライスからのグルコース遊離増加はこれら諸報告と同じものと考えられる。しかしストレス時にグルカゴン分泌亢進があるか否かは明らかでない。

エピネフリンの効果とグルカゴンの効果を比較するために対照区に対するグルコース生成率を％で示し，両者の関係を Fig. 32 に示した。濃度はエピネフリンは10μg/ml，グルカゴンは17μg/ml と異なるが，グルコース遊離に与える影響は類似しており，この現象は基質としてアミノ酸も乳酸も添加していないこと，およびグルコース遊離量が肝体重比が0.8以下の個体では小さいことから，Umminger et al. (1975) の示すように，グリコーゲン分解によるグルコース遊離の促進であろうと推察される。Morata et al. (1982a. b) はニジマスにおける in vivo と in

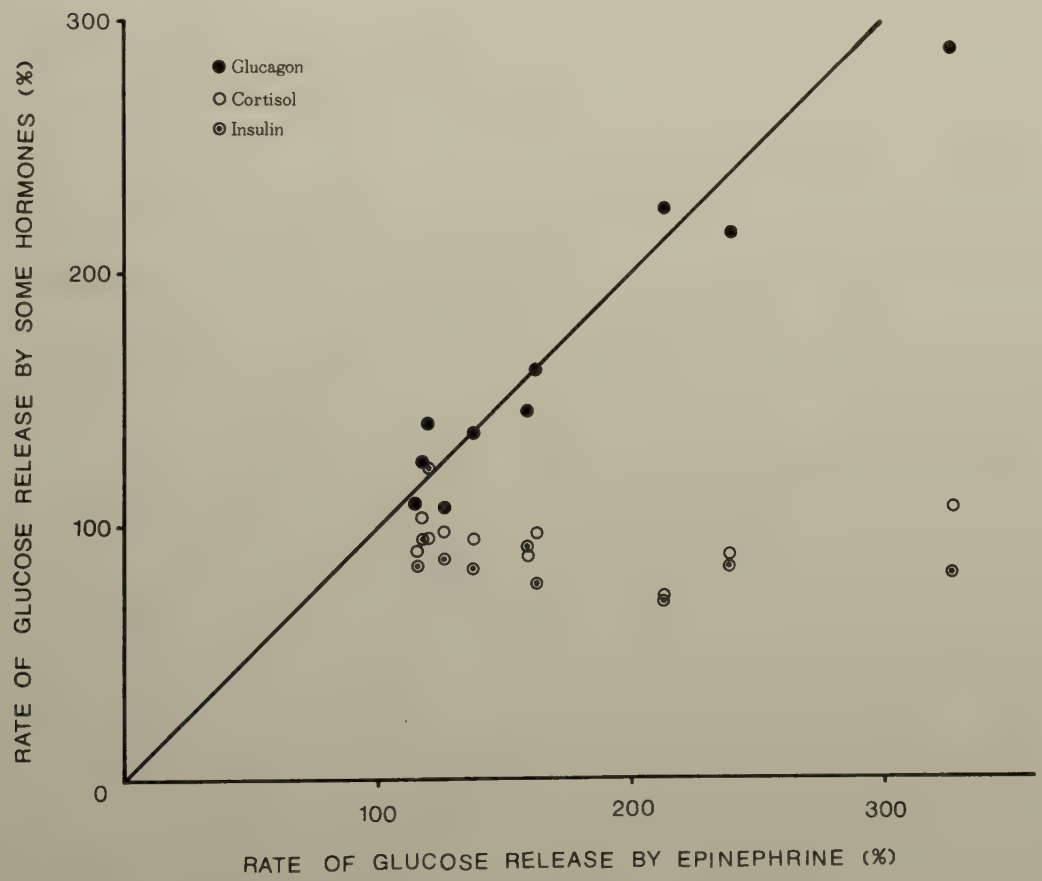


Fig. 32. The relationship between the relative rates of glucose release by epinephrine and those by glucagon, cortisol and insulin from the liver slices.

vitro 実験でアドレナリン，グルカゴン，cyclic-AMP 添加が肝スライスからのグルコース遊離を促進したにもかかわらず，肝組織のグリコーゲン含量に変化が認められなかったことから，このグルコース遊離は組織中の基質からの糖新生に由来するとしている。しかし遊離されたグルコース量と存在するグリコーゲン量を比較する場合には組織と血液の分布の量的検討が必要で，この点を厳密に検討しないと判断は下せない。

グルカゴンと血液中遊離脂肪酸に関して TASHIMA and CAHILL (1964), LARSSON and LEWANDER (1972), CHAN and WOO (1978 a) はそれぞれ *Opsanus tau*, *Anguilla anguilla*, *Anguilla japonica* でグルカゴン注射は遊離脂肪酸には変化を与えないとしているが，INCE and THORPE (1975) は *Esox lucius* で投与後6時間で有意な上昇を認めている。本実験からみると，グルカゴンはストレス時緊急に脂肪酸遊離に作用するとは考えられないが，この物質の作用についてはなお究明すべき問題点が残されている。

3) コーチゾール

魚類における corticosteroid の研究は IDLER and TRUSCOTT (1972) の総説にあるように化学的性質に関してはかなり多くの論文がみられる。一般的には，条件によって変動はあるが血中にはコーチゾールの多いことがよく知られている。しかし，コーチゾールの生物学的作用に関しては糖新生に関するもの以外には報告が少ない。CHESTER-JONES et al. (1972) は硬骨魚肝における糖新生へのコーチゾールの関与は基本的には哺乳類におけるものと変らないとしている。脂肪酸やアミノ酸代謝についての報告は少ない。

HILL and FROMM (1968) はニジマス腹腔内にコーチゾールペレットを移植して1～2週間後に採血したところ血糖値は上昇しなかったとしている。

BUTLER (1968) はウナギ *Anguilla rostrata* に5 mg/kg 体重のコーチゾールの腹腔内注射を10日から3週間続けた時血中グルコース濃度が増加し，筋肉と肝臓のグリコーゲンが増加したとしている。また，UMMINGER and GIST (1973) はキンギョにコーチゾール1 μg/g 体重の2回目の注射後2時間して有意な血糖上昇を認めており，MURAT (1976) はコイにコーチゾール2.5mg/kg体重を注射し12時間後に血糖値は増加したと報告した。INUI and YOKOTE (1975 b, c) はウナギ *Anguilla japonica* に2, 10mg/kg体重のコーチゾールを5日～10日注射を続けた時，血糖値，肝臓グリコーゲン量，肝臓 GOT, 肝臓 FDP, 肝臓 PFK 活性が増加したとし，さらに肝臓を除去したウナギにコーチゾールを注射（1回，10mg/kg体重，筋肉内）した後，血中グルコースは検出できず，血漿アミノ酸量の増加もみられなかったとしている。CHAN and WOO (1978 b) はウナギ *Anguilla japonica* に1 mg/kg体重のコーチゾールを筋肉注射し，酸素消費量増加，血清グルコース量増加，血清アミノ酸量増加，肝臓の蛋白質，グリコーゲン，脂質量の増加等をみており，これらの変化は2時間後から始まり変動することを示している。彼等はコーチゾールが末梢組織の蛋白質や脂肪を分解し，肝臓でそれらからの糖新生を促進すると結論づけている。LIDMAN et al. (1979) はウナギ *Anguilla anguilla* に5 mg/kg体重のコーチゾールを腹腔内注射し1, 4, 14 日後に取り上げ血清中グルコースの増加や肝グリコーゲンの増加を観察しており，血清脂肪酸量の変化はなかったとしている。DAVE et al. (1979) はコーチゾール注射によって血

液の脂肪酸組成が長期飢餓時のものと似てくることから，中性脂肪の分解と脂肪酸代謝がコーチゾールによって促進されるだろうと推論している。また，LEACH and TAYLOR (1980) はコーチゾールブロック剤を飼育水に加えておいて，魚にストレスを与えた時の血中コーチゾール，グルコース量を測定し，1～3時間後の血液グルコース量の増加はグリコーゲン分解により，6時間後の増加は糖新生によるものと推論した。さらに LEACH and TAYLOR (1982) は *Fundulus heteroclitus* にコーチゾール 200μg/尾を5日間注射したが各注射後数時間以内に高血糖上昇ピークのあることを認めている。

これらコーチゾールの代謝に与える影響についてはすべて in vivo 実験によるものであり，ホルモン投与量が違っても血糖量増加が認められるが，それ以外の反応については，結果は一致していない。特に CHAN and WOO (1978b) が指摘するように，コーチゾール投与後の採血時間が影響するとすれば，結果に混乱が生じるのも無理はないと考えられる。in vivo 実験のコーチゾールの糖新生効果に関しては，基質がアミノ酸その他種々な物質が存在していることと糖新生現象すなわち血糖上昇が現われるまでに6時間以上の time lag がみられることなどが特徴的である。第1章で報告した各種ストレス時の血糖上昇は条件によっては比較的短時間（1時間以内）で起っている。このことはコーチゾールによる血糖上昇の経時的現象とは異なり，ストレス時の初期の血糖上昇にはコーチゾールが直接関与していないことを推測させる。本実験では組織は神経支配や血流を通じての基質補給や他ホルモンの共存がない状態に置かれており，1時間の初期の反応をみているという点で in vivo 実験とは大きく異なる。供試魚マダイの肝臓は，肝膵臓であり，Table 24にみられるように，対照組織からのグルコース遊離はかなり大きい。これに対してコーチゾールを添加した時にはグルコース遊離が抑制されている。また，3時間の振盪培養時に肝臓での脂肪酸遊離量は対照区に比べて多かったが，その値は個体差が大きく今後の検討が必要であろう。これらの結果や諸報告からみるとストレス時初期の血糖上昇や遊離脂肪酸の変動にはコーチゾールが主役を果しているとは考えられない。

4）インスリン

インスリンの硬骨魚に対する血糖低下作用は比較的よく研究されている。LEIBSON and PLISETSKAYA (1968) は *Scorpaena porcus*, *Spicara smaris*, *Trachurus mediterraneus*, *Gobiidae sp.*, *Gyprinus carpio* で，30～80I.U./kg体重のインスリン腹腔内注射で血糖低下がみられたとし，TASHIMA and CAHILL (1968) は *Opsanus tau* への100I.U./kgの牛豚インスリンの静脈注射によって，INUI and YOKOTE (1975a) は *Anguill japonica* に5I.U./kg体重の豚インスリン注射によって，INCE and THORPE (1976) は *Esox lucius* に2I.U./kgのタラインスリンの動脈内注射によって，LEWANDER et al. (1976) は *Anguilla anguilla* に牛豚混合インスリンの腹腔内注射によって，OTTOLENGHI et al. (1982) は *Ictalurus melas* に60I.U./kgの牛インスリンの腹腔内注射によって，マダイに関しては古市・米 (1971c) が0.02，2I.U./100g体重の注射によってそれぞれ顕著な血糖低下を観察している。これらの報告はインスリンが哺乳類のものでも魚類のものでも，また，投与方法が異なっても同様に血糖低下作用を起こすことを示している。経時的なサンプリングを行ったデータからは1時間後にすでに低血糖効果が認められており，この反応の

現われ方は早い。肝臓の炭水化物代謝に与えるインスリンの効果についての in vitro 研究は少ない。HAYASHI and OOSHIRO (1975 b) はウナギ灌流肝でインスリン添加がグルコース遊離を抑制したと報告し，DE VLAMING and PARDO (1975)は *Notemigonus crysoleucus* の in vitro 実験で，インスリンによる肝臓のグリコーゲン蓄積効果が温度条件によって変わることを報告した。

インスリン注射による血糖値低下は肝臓自体からのグルコース遊離抑制と，肝臓以外の組織による血中グルコースの取り込み増大の相乗効果によるものでないかと考えられる。

Fig. 32 は，エピネフリンやグルカゴンの効果と比較すると，コーチゾールやインスリンのグルコース遊離抑制が100%以下のほぼ一定の値で推移することを示している。これがどのような意義を持つのか明らかではないが，その作用機序においてコーチゾールとインスリンは，エピネフリンやグルカゴンとは異質なものであることを示唆していると考えられる。

魚に投与したインスリンが血中遊離脂肪酸に与える影響については血糖ほどはっきりした傾向は得られていない。TASHIMA and CAHILL (1968) は *Opsanus tau* で100I.U./kgのインスリン静脈注射で4時間後の血中遊離脂肪酸は変動しなかったと報告したが，INCE and THORPE (1975) は *Esox lucius* に2 I.U./kg体重のインスリンを投与して著しい遊離脂肪酸の低下を観察した。さらに，MINICK and CHAVIN (1972)，LEWANDER et al. (1976) はキンギョとウナギ *Anguille anguilla* でインスリン投与後の血中遊離脂肪酸低下を報告している。

5）ストレス時の物質代謝に関与するホルモン

今回の in vitro 実験系に用いた肝臓は肝膵臓であるということ，グルコースを添加しない条件であること，反応温度25℃はマダイの通常の生息温度範囲内にあるが，やや高い温度であること，15分間の予備反応後1時間の反応を測定していることなどの条件で取り扱われた。これらの条件はストレス時に放出されたホルモンが代謝に与える直接的影響を見るために設定した条件である。特にストレス時の短時間（1時間以内）に起る血糖上昇には，肝臓や筋肉等のグリコーゲン貯蔵器官からの速やかなグルコース生成と血液中への放出がなければならない。本実験結果から，この条件を満たすものは，エピネフリンとグルカゴンであった。エピネフリンはストレス時，血中に速やかに増加することがよく知られており，この点からも，ストレス時の代謝を支配する主たるホルモンと考えられる。グルカゴンはストレス時にストレッサーに対応して速やかに分泌されるものかどうかは明らかでない。

コーチゾールはストレス時，血液中に著しく増加するホルモンではあるが本実験結果にもみられるように，短時間内に直接肝臓からグルコースを遊離させる作用はみられない。むしろ基質のない状態ではこれを抑制する効果を示した。この効果が in vivo 系でも起こっている可能性もあるが，その抑制の程度は大きくないことから，このホルモンの主たる作用が血糖低下にあるとは考え難い。また，このホルモンによる糖新生の可能性については，別途実験をする必要があろう。

肝臓からのグルコース遊離はエピネフリンによって大きく促進されることが確認されたが，哺乳類で定説となっているエピネフリンによる脂肪酸遊離の制御に関しては不明のままに残された。ストレス反応時の緊急なエネルギー動員の機構は魚類では哺乳類ほど質的，かつ量的に進化して

いないと考えることもできる。これらの諸点に関しては，さらに，研究を積み重ねてゆく必要があろう。

第4節　エピネフリンの物質代謝にあたえる影響

エピネフリン（アドレナリン）は，ストレス時に分泌が促進されるホルモンとしてよく知られている。魚類でもストレス時に血中エピネフリン濃度が増加することは MAZEAUD et MAZEAUD (1981) により報告されている。このホルモンの物質代謝にあたえる影響としては，肝臓，筋肉における解糖に関する研究が多い。マダイでは前節の実験結果のように肝臓からのグルコース遊離を速やかに行わせる作用があった。

本節では，ストレス時エピネフリンの存在下で血中グルコースの利用が，どのような影響を受けるかを知るために^{14}C-標識グルコースを用いた実験を行ったのでその結果を述べる。

1．実験条件

実験は2回行った。第1回は1981年秋より南西海区水産研究所陸上コンクリート水槽で，生ガキを与え長期間飼育したマダイ2歳魚を用い，1982年3月20日から4月15日の間に，第2回は養殖場より運搬し約0.5カ月飼育した3歳魚を用いて1983年1月19日から2月10日の間に行った。供試マダイは実験日前日は餌を与えなかった。実験当日は1尾を水槽からとり上げ MS222 で麻酔し，尾叉長と体重を測定した後，組織標本を調製し，第1節で述べたマニュアルに従って，肝臓スライス標本，胸鰭筋肉剝離標本，腹腔内脂肪組織細片による培養緩衝液中のU-^{14}C-グルコースからの炭酸ガス生成，グリコーゲンへの転換，総脂質への取り込みを測定した。実験区にはエピネフリン（シグマ社㈠EPINEPHRINE NO. E-4250）を1フラスコ当り30μg となるように懸濁緩衝液50μl を添加した。

2．実験結果

実験ⅠおよびⅡに供試したマダイの尾叉長，体重，肥満度および肝体重比を Table 28 に示した。実験Ⅰのマダイの全身状態は比較的均一であるのに対して実験Ⅱのマダイではばらつきが大きかった。

各組織標本の実験結果を Tables 29～31に示した。肝臓におけるグルコースの代謝では炭酸ガス生成量がグリコーゲンや脂肪として蓄積される量より多い。これはグルコースがエネルギーとして多く消費されることを示している。しかし，組織総取り込み量に比べればそれらの量は少な

Table 28. Body conditions of the red sea bream supplied for the experiment on the effect of epinephrine on glucose metabolism in the tissues (mean±s. d.).

Experiment	Fork length (cm)	Body weight (g)	Liver weight (g)	Condition factor[1)]	Hepatosomatic[1)] index
I (n =6)	27. 6±1. 35	429. 6±72. 85	5. 43±0. 95	2. 03±0. 16	1. 27±0. 18
II(n =7)	29. 3±3. 31	495. 4±215. 2	10. 21±5. 72	1. 88±0. 39	2. 03±0. 71

[1)]; Condition factor and hepato-somatic index were calculated with body weight, fork lengh, and liver weight according to the formula listed in Table 23.

Table 29. Effect of epinephrine on the utilization of U-^{14}C-glucose in the medium by isolated liver slices from the red sea bream (mean±s. d.).

No.	Experiment group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/h)			
		CO_2	Tissue incorp.	Glycogen	Lipid
I	Control	9. 74±2. 10 (5)	—	2. 37±1. 11 (5)	2. 82±0. 58 (5)
	Epinephrine	9. 98±2. 01 (6)	—	1. 30±0. 56* (6)	2. 56±0. 37 (5)
II	Control	5. 68±3. 85 (6)	206. 6±43. 69 (6)	2. 52±0. 88 (6)	1. 62±0. 56 (6)
	Epinephrine	5. 16±1. 53 (6)	223. 2±40. 37 (7)	4. 41±3. 14 (6)	1. 37±0. 34 (6)

*; Significantly different from controls ($p \leq 0.05$).

Table 30. Effect of epinephrine on the utilization of U-^{14}C-glucose in the medium by isolated fin muscles from the red sea bream (mean±s. d.).

No.	Experiment group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/h)			
		CO_2	Tissue incorp.	Glycogen	Lipid
I	Control	3. 43±1. 42 (6)	—	32. 55±12. 91 (6)	0. 85±0. 21 (6)
	Epinephrine	3. 19±0. 64 (6)	—	14. 87±7. 13* (6)	0. 98±0. 40 (6)
II	Control	3. 00±0. 76 (5)	333. 1±30. 04 (6)	29. 88±13. 01 (6)	0. 35±0. 07 (6)
	Epinephrine	2. 94±0. 65 (5)	315. 0±47. 99 (6)	21. 01±9. 93* (6)	0. 39±0. 14 (6)

*; Significantly different from controls ($p \leq 0.05$).

Table 31. Effect of epinephrine on the utilization of U-^{14}C-glucose in the medium by isolated adipose tissue pieces from the red sea bream (mean±s. d.).

No.	Experiment group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/h)			
		CO_2	Tissue incorp.	Glycogen	Lipid
I	Control	1. 57±0. 06 (5)	—	—	0. 99±0. 13 (6)
	Epinephrine	1. 99±0. 88* (5)	—	—	1. 01±0. 29 (6)
II	Control	0. 85±0. 42 (4)	37. 83±20. 49 (4)	—	1. 16±0. 37 (4)
	Epinephrine	0. 82±0. 39 (4)	33. 28±8. 38 (4)	—	1. 24±0. 34 (4)

*; Significantly different from controls ($p \leq 0.05$).

い。胸鰭筋肉（Table 30）ではグルコースはグリコーゲンとして取り込まれる量が多く，組織取り込み量の約10%を占め，炭酸ガス生成量の約10倍にあたる。脂肪組織（Table 31）では炭酸ガス生成量，組織への取り込み量，脂肪への転換量は少なかった。

各組織のグルコースの利用に関して，エピネフリンを添加すると，いくつかの変化が起こった。肝臓組織では，グルコースからのグリコーゲン生成は実験Ⅰでは抑制されたが，実験Ⅱでは抑制はなく平均値はむしろ増大した。胸鰭筋肉組織では，エピネフリンは実験Ⅰと実験Ⅱでグルコースのグリコーゲンへの転換を抑制した。この抑制は実験Ⅰの方が大きかった。脂肪組織では実験Ⅰで炭酸ガス生成量がエピネフリン添加によって有意に増大したが，実験Ⅱではこの傾向は認められなかった。

3．考　察

1）組織における炭水化物代謝

魚類の炭水化物代謝に関する報告は多いが，各組織や器官の代謝の様相を明らかにしているものは少ない。その中で肝臓組織については比較的多く in vivo とin vitro の研究がみられる。Nagai and Ikeda（1971 b，1972）は，glucose-6-^{14}C，1 μCi をコイの腹腔内に注射した時，炭酸ガス生成に10%，肝膵臓グリコーゲンへの取り込みに1.11%利用されること，また，glucose-U-^{14}C を腹腔内注射した時は炭酸ガスに9.67%、肝膵臓グリコーゲンに2.10%，中性脂肪に0.67%利用されることをみている。Renaud and Moon（1980）は *Anguille rostrata* の摘出肝臓細胞における6-^{14}C-glucose を用いたグルコース利用に関する実験で炭酸ガス，脂質，グリコーゲンへの取り込み比率はそれぞれ2.5：60.5：8.3%となると報告した。本実験の場合には実験ⅠとⅡで結果が異なったが，グリコーゲンへの取り込み比率は Nagai and Ikeda のコイの実験結果と近い値を示しており，炭酸ガスとしての利用率が高い。Renaud and Moon の実験結果との差は魚種，魚の状態，用いたグルコースの濃度等の違いによるものと考えられる。

筋肉組織について Wittenberger and Diaciuc（1965）は電気刺激したコイの側線部の赤筋と白筋の乳酸，グリコーゲン，ピルビン酸量の変動から赤筋が筋肉の代謝中心的な役割を果すことを推察し，さらに U-^{14}C-glucose 6μCi を *Scomber scombrus* の体側赤筋に注射し，1時間後に赤筋，白筋，肝臓への取り込み量とグリコーゲンへの取り込み量をみている（Wittenberger 1972）。興味深いことには，肝臓のグリコーゲンへ1.3%がとり込まれるのに対して赤筋のグリコーゲンへは27.7%とり込まれており，これは本実験のマダイで，グリコーゲンへの取り込み量が，肝膵臓：胸鰭筋肉（赤筋）で2.37：32.55と2.52：29.88であることと類似した結果である。

本実験結果の対照区の値からグルコースからの炭酸ガス生成（エネルギーとしての利用）を組織間で比較すると，肝膵臓＞胸鰭筋肉＞腹腔内脂肪組織の順となる。腹腔内脂肪を1とすると胸鰭筋肉ではその2～4倍，肝膵臓では6～7倍となる。炭酸ガス生成量は組織呼吸量を示すので，この数値は組織の代謝活性の程度を示すものといえよう。

組織への総取り込み量は胸鰭筋肉＞肝膵臓＞腹腔内脂肪の順となり，腹腔内脂肪を1とすると肝膵臓では約6倍，胸鰭筋肉では約9倍となり，これはグルコースの組織に対する親和性や利用程度が異なることを意味しているものと考えられる。

グリコーゲンへの利用は胸鰭筋肉では肝膵臓の10倍以上も活発である。脂質への利用は肝膵臓＞腹腔内脂肪組織＞胸鰭筋肉の順となっている。これらグルコースのとり込み型式と量の相違は各組織ごとのグルコース利用の方法に特徴があることを示している。

2）エピネフリンの効果

本研究ではストレス時のグルコース利用の様相を知るために，これら異なったグルコース利用特性を持つ組織代謝系へのエピネフリン添加の影響を調べた。2つの実験に共通した効果は，胸鰭筋肉組織におけるグルコースのグリコーゲンへの利用の抑制であった。肝膵臓でのグリコーゲンとしての利用の抑制は実験Ⅰで認められたが，実験Ⅱでは認められなかった。実験Ⅱの魚の肝膵臓ではグルコースからのグリコーゲン生成の増加を示し，対照値に対する増加率は225.5%にも達した。このことは実験季節や年齢等に関係があるのかもしれない。

魚類でエピネフリンが組織の物質代謝に与える影響に関しては，心臓血管系，筋肉，肝臓組織についていくつかの報告がみられる。

PEYRAUD-WAITZENEGGER (1979) はウナギ *Anguilla anguilla* における in vivo 実験でアドレナリン投与による呼吸水量増加を報告したが，さらにこのアドレナリン効果が冬期と夏期では全く異なり，冬期には α-receptor が夏期には β-receptor が反応することを報告した (PEYRAUD-WAITZENEGGER et al. 1980)。TIRRI and RIPATTI (1982) は *Perca fluviatils* の摘出心臓に対するアドレナリンの影響を調べ，アドレナリンは心拍数を減少させ，この効果は温度が低いほど大きいとした。PÄRT et al. (1982) はアドレナリンはニジマスの灌流鰓の血管系の収縮を起こすとした。

筋肉組織におけるグリコーゲン消長とエピネフリンの効果に関して，BENTLAY and FOLLETT (1965) は *Lampetra fluviatilis* にアドレナリンを腹腔内注射して血糖増加と筋肉グリコーゲンの有意の減少をみたが，肝臓のグリコーゲン減少は認められないとした。WITTENBERGER et al. (1975) は体側の赤筋と白筋の in vitro 実験で培養液中にグルコースが存在すると赤筋ではグリコーゲンの減少がみられず，白筋でのみ認められたとし，赤筋におけるグルコースからのグリコーゲン合成能の大きさを確認し，この系にアドレナリンを添加すると赤筋における著しいグリコーゲン減少が認められたとしている。

肝臓組織については，アドレナリン投与と，グリコーゲン量変化やグリコーゲン・フォスフォリラーゼ活性との関係に関する報告がある。MURAT et SERFATY (1975) は6℃，20℃，30℃で4カ月飼育したコイに100μg/100g 体重のアドレナリンを腹腔内注射し血糖の有意な増加は認めたが，肝膵臓，白筋，赤筋のグリコーゲンは変動も少なくかつ一定の傾向をみていない。UMMINGER and BENZIGAR (1975) は *Ictalurus nebulosus* の摘出肝臓片を用い，培養液にエピネフリンを加えるとグリコーゲン・フォスフォリラーゼ活性の減衰が阻止され，同時に培養液中にグルコースが遊離したことから，エピネフリンは効果的な解糖促進剤であるとした。また UMMINGER et al. (1975) は *Fundulus heteroclitus* で同様な結果を得た。VERNIER et SIRE (1978a) はニジマスの肝臓組織を用いた in vitro 実験でアドレナリンがグリコーゲン・フォスフォリラーゼ活性の減衰を抑制し，グリコーゲンが消費されることを報告し，さらに in vivo 実験で50μg/100

g体重のアドレナリンを静脈注射した時，グリコーゲン・フォスフォリラーゼ活性は増大したという（Vernier et Sire 1978 b）。Birnbaum et al.（1976）は，キンギョの摘出肝細胞の培養液中のグルコース量の有意な増加と共に肝細胞グリコーゲン量が減少したとしている。そして，この反応の初期に cyclic AMP が増加していることから，このグルコース遊離が解糖によることを明らかにした。

これらエピネフリンの物質代謝に与える影響は解糖によるエネルギー産生を意味していることで一致している。

本実験で明らかにされた胸鰭筋肉や肝膵臓におけるグルコースからのグリコーゲン合成のエピネフリンによる抑制は，エピネフリンによる肝膵臓からのグルコース遊離増加（第3節（石岡 1984 c））と表裏一体の関係にあるものと推測される。すなわち，エピネフリンによる解糖代謝系の活性化が関与していると考えられる。示野（1974）は魚類の肝臓や筋肉組織が解糖系の諸酵素を有していると述べている。彼によると解糖系の key 酵素である phosphoglucose isomelase と phosphofructokinase は肝臓，腎臓，心臓，消化管，血合肉，普通肉に広く分布し，活性は肝臓と普通肉で高く，両酵素の組織分布パターンは数種類の魚でよく似ている。マダイでも肝膵臓や筋肉にはこの解糖経路が備わっているものと考えられる。マダイでは少なくとも肝膵臓には phosphofructokinase が存在しかなりの活性を示すことを確認している（石岡未発表）。

本実験結果では培養液中に多量のグルコースが存在し，組織取り込み量からみてグルコースの組織への透過性は高いにもかかわらず，エピネフリンを添加しても肝膵臓や筋肉ではグルコースからの炭酸ガス生成に変化がなく，総脂質への取り込みにも変化はなかった。このことはエピネフリンは，代謝の方向をグリコーゲン分解へ切り換える役割を特異的に果し，結果的に各組織におけるグルコースの利用特にグリコーゲンとしての利用を抑制するものと考えられる。特に胸鰭筋肉組織では細胞外グルコースからのグリコーゲン合成機能が著しく高いので，グルコース利用率は低下することになろう。一方，筋肉に対するグルコース透過性が高いということは白筋が継続的に多量のグルコースの供給を受けることにつながり，同時にエネルギーとしての利用が抑制されることはないので緊急時の逃避行動には有利であると考えられる。

第5節　コーチゾールの物質代謝にあたえる影響

ストレス時に短時間内に循環血液中のコーチゾール量が増加する事実はよく知られている。しかし，このホルモンが糖新生に効果を持つということだけは比較的多くの報告があるが物質代謝系に与える影響に関する研究は少ない。それはこのホルモンが十分な効果を発揮するまでに長時間を要する故かもしれない（第3節）が，ストレス時のこのホルモンの物質代謝系に対する役割や意義に関しては不明確な点が残されている。本節ではコーチゾールが短時間内に魚類の物質代謝に与える作用をみるため in vitro 系で組織標本を用いグルコース，乳酸，グリシンの物質代謝にあたえる影響を調べた。

1．実験条件

グルコース利用に対するコーチゾールの効果の実験は第4節の実験Ⅱの魚体と同一のものを用

いた。実験区には1フラスコ当たりコーチゾール（シグマ社 Hydrocortisone No. H-4001）を30μg となるよう懸濁緩衝液50μl を添加した。

乳酸利用に対するコーチゾールの効果の実験では，結晶乳酸（シグマ社，L(+)-Lactic acid L-1750）を用い，これの0.5M 溶液4 ml に U-^{14}C-乳酸50μCi を含む標識乳酸を原液とし，蒸溜水で10倍稀釈したもの50μl を3 ml の培養液（クレブス氏重炭酸緩衝液）に加え基質とした（0.0625 μCi 2.5μmol 乳酸）。組織標本の作製，振盪培養方法等は第一節で述べたとおりである。炭酸ガス生成，組織への取り込み量，グリコーゲンや総脂質への取り込み量の測定は第1節のマニュアルによったが肝膵臓に関しては，乳酸からのグルコース生成量も測定した。

アミノ酸利用に与えるコーチゾールの効果の実験ではグリシンを基質とした。標識グリシンとしては U-^{14}C-グリシンを用い，100μCi/0.5M グリシン液を50μl 培養液に添加した（1μCi/25 μmol グリシン）。コーチゾールは，実験区に30μg/50μl の懸濁液を添加した。振盪時間は予備実験の結果から3時間とした。アミノ酸基質の場合はグルコース生成量を求める時 pH 調整に時間がかかり容量決定が困難なので，炭酸ガス生成量測定と，組織総取り込み量，グリコーゲン，脂質，グルコース生成量測定とは，並行して別のフラスコで行った。前者は内室付き二重フラスコを，後者は20ml シリコンゴム栓付三角フラスコを用いた。炭酸ガス生成量測定用フラスコは1時間の振盪培養後マニュアル通りに，その他の測定用フラスコは3時間の振盪培養後，1本づつ氷冷水につけ反応を停止させ直ちに組織片を取り出して重量測定を行い，組織を分割，重量測定後必要な操作を行った。

2. 実験結果

実験Ⅰ（グルコース基質），実験Ⅱ（乳酸基質），実験Ⅲ（グリシン基質）に用いた魚の状態を Table 32 に示した。実験ⅠとⅡの魚は3年魚，実験Ⅲの魚は2年魚である。

Table 33 に グルコース利用の代謝に関する各組織の炭酸ガス生成，組織への取り込み，グリコーゲンへの転換量，総脂質への転換量を^{14}C によって測定した結果を示した。代謝の様相は第4節で述べたように肝臓では炭酸ガス生成に利用される割合が高く，胸鰭筋肉ではグリコーゲンへ取り込まれる量が多く脂肪組織では組織取り込み量が少ない。これに対してコーチゾールの添加は胸鰭筋肉における^{14}C 総取り込み量を有意に減少させた。その値は対照区の約88%であった。腹腔内脂肪組織では総脂質への取り込みを増加させ対照区の約120%となった。コーチゾールの添加は組織におけるエネルギーとしての利用（炭酸ガス生成）とグリコーゲンへの転換には影響を与えなかった。

乳酸を基質とした場合の結果を Table 34 に示した。肝臓では乳酸からの炭酸ガス生成，グル

Table 32. Body conditions of the red sea bream supplied for the experiment (mean±s. d.).

Experiment No.	Fork length (cm)	Body weight (g)	Liver weight (g)	Condition factor	Hepato-somatic index
I (n=7)	29. 3±3. 31	495. 4±215. 2	10. 21±5. 72	1. 88±0. 39	2. 03±0. 71
II (n=7)	30. 3±1. 40	550. 6±75. 0	8. 34±2. 61	1. 98±0. 10	1. 53±0. 51
III (n=9)	25. 5±1. 43	332. 0±59. 4	3. 81±1. 39	1. 99±0. 12	1. 13±0. 31

Table 33. Effect of cortisol on the utilization of U-^{14}C-glucose in the medium by isolated tissue samples of the red sea bream (mean±s.d.). (n)

Tissue	Group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/h)			
		CO_2	Tissue incorp.	Glycogen	Lipid
Liver	Control	5.79±3.52 (7)	206.23±43.94 (6)	2.48±0.81 (7)	1.667±0.525 (7)
	Cortisol	5.41±2.78 (7)	203.34±49.26 (6)	2.44±0.63 (7)	1.709±0.537 (7)
Fin muscle	Control	2.95±0.63 (7)	333.15±30.04 (6)	32.96±14.40 (7)	0.350±0.068 (7)
	Cortisol	2.81±0.91 (7)	292.66±35.48* (6)	29.59±13.54 (7)	0.330±0.034 (7)
Adipose tissue	Control	1.22±0.97 (7)	70.93±55.76 (6)	—	1.057±0.322 (7)
	Cortisol	2.14±3.96 (7)	81.66±102.80 (6)	—	1.265±0.382** (7)

*; Significantly different from controls ($p \leqq 0.05$).
**; Significantly different from controls ($p \leqq 0.01$).

Table 34. Effect of cortisol on the utilization of U-^{14}C-lactic acid in the medium by isolated tissue samples of the red sea bream (mean±s.d.). (n)

Tissues	Group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/h)				
		CO_2	Tissue incorp.	Glycogen	Lipid	Glucose
Liver	Control	43.61±17.40 (6)	37.69±19.80 (6)	0.584±0.783 (6)	17.31±18.57 (6)	44.06±27.62 (6)
	Cortisol	48.25±23.52 (5)	37.69±16.90 (6)	0.540±0.755 (6)	15.82±16.61 (6)	41.58±36.09 (6)
Fin muscle	Control	9.16±2.86 (6)	14.15±3.84 (6)	0.835±0.625 (6)	0.740±0.312 (6)	—
	Cortisol	8.79±3.80 (6)	13.74±2.53 (6)	0.991±0.757 (6)	0.667±0.322 (6)	—
Adipose tissue	Control	7.40±2.37 (5)	7.15±3.00 (5)	—	2.919±1.822 (5)	—
	Cortisol	7.20±2.93 (5)	6.01±3.09 (5)	—	2.386±1.283 (5)	—

コース生成，総脂質への取り込みは大きいが，グリコーゲンへの取り込みは少ない。総脂質への乳酸の取り込み量は組織取り込み量の38%に達した。胸鰭筋肉では乳酸による炭酸ガス生成量は多いが，グリコーゲンと総脂質への取り込みは少ない。腹腔内脂肪組織では組織への取り込み量は少ないが乳酸からの炭酸ガス生成，総脂質への取り込み量は多い。コーチゾールの添加はこれら測定した項目いずれについても有意な影響を与えなかった。

Table 35 にアミノ酸（グリシン）を基質とした場合の結果を示した。本実験結果では個体差が大きかった。肝膵臓ではグリシンからの炭酸ガス生成は大きい。組織への総取り込み量は大きいが，これに比べるとグリコーゲン，総脂質，グルコースへの取り込みは相対的に少なかった。

Table 35. Effect of cortisol on the utilization of U-^{14}C-glycine in the medium by isolated tissue samples of the red sea bream (meam±s.d.). (n)

Tissue	Group	^{14}C-incorporation (dpm/mg tissue/3h.)				
		CO_2	Tissue incorp.*	Glycogen*	Lipid*	Glucose*
Liver	Control	536.25±496.80 (6)	1006.99±206.55 (9)	13.51±17.80 (9)	29.40±27.50 (6)	91.45±84.16 (8)
	Cortisol	482.46±374.46 (6)	1059.99±248.03 (9)	4.58±8.24** (9)	20.74±16.01 (6)	88.75±94.78 (8)
Fin muscle	Control	0.69±0.57 (4)	392.10±25.67 (6)	0.014±0.007 (6)	0.879±0.496 (6)	—
	Cortisol	0.68±0.60 (2)	370.65±29.37** (6)	0.017±0.014 (6)	0.526±0.059 (6)	—
Adipose tissue	Control	2.12±1.59 (4)	165.52±60.55 (5)	—	0.645±0.183 (5)	
	Cortisol	2.76±1.35 (4)	189.30±72.78 (5)	—	0.627±0.119 (5)	

*; Data from tissues without fixation by 2N HCl solution.
**; Significantly different from controls ($p \leqq 0.05$).

胸鰭筋肉では炭酸ガス生成は極めて少なくブランクとの差が求められない例も多かった。また，この組織でのグリコーゲンや脂質としての利用も少なかった。腹腔内脂肪組織ではグリシンから炭酸ガス生成も総脂質への取り込みも少なかった。このような各組織の代謝系へのコーチゾールの添加は肝膵臓におけるグリシン ^{14}C のグリコーゲンへの利用を抑制し（対照値の34%），また胸鰭筋肉組織におけるグリシンの総取り込みを減少させた（対照値の95%）。

3. 考　察

肝臓，胸鰭筋肉，腹腔内脂肪組織における，グルコース，乳酸，グリシン等，エネルギー源物質の代謝に関する魚類での研究は少ない。

1）グルコースの代謝とコーチゾール

基質グルコースの代謝に関してコーチゾールは胸鰭筋肉におけるグルコース取り込みの抑制と腹腔内脂肪組織における脂質への取り込み増加という効果を示した。ストレス時の高血糖の原因として，体組織におけるグルコース取り込み抑制があるのではないかという仮説に対しては，うまくあてはまる結果となっている。しかし，胸鰭筋肉組織は肝臓よりもグリコーゲン合成機能の高い組織であり，ストレス時にはグルコース遊離を行い，白筋でのグルコース利用を助ける働きをするものと考えれば（第4節），外部グルコース取り込み機能の抑制は合理的な効果とは考え難い。実験条件は，高濃度グルコース，高濃度コーチゾール存在下で行っており，この取り込み抑制の程度もそう大きくはないのでストレスの状態によっては起こり得る状況であり，かつ，グルコースの細胞における取り込みに対するコーチゾールの直接的作用と考えるより，複合的なグルコースの代謝に由来する二次的な効果と考えた方がよいであろう。

腹腔内脂肪組織におけるグルコースの脂質区分への取り込み増加を含めてコーチゾールの添加は腹腔内脂肪組織での活性を高める傾向がみられる。哺乳類での報告とは全く逆のこの現象

(FAIN and CZECH 1973) のストレス時の意義については明らかでない。エピネフリンの作用（第3節）も，コーチゾールの効果も，哺乳類のものとは異っており，魚類の脂質代謝とホルモンの関係については，より一層の研究が必要であろう。

2）乳酸の代謝とコーチゾール

乳酸基質の場合，炭酸ガス生成量は肝臓＞胸鰭筋肉＞腹腔内脂肪組織の順となり，順位はグルコース基質の場合と同じであるが，炭酸ガス生成に利用される^{14}C の比率は肝臓での炭酸ガス生成にみられるように著しく大きい。組織への総取り込み量も順位は肝臓＞胸鰭筋肉＞腹腔内脂肪組織となる。組織への取り込み量と炭酸ガス生成量の割合はほぼ1：1であり，組織にとり込まれても，直ちにエネルギーとして利用されるものと考えられる。また，グリコーゲンへの利用量に比べて総脂質への取り込み量が多いことが特徴的である。

HAYASHI and OOSHIRO (1975 a, b, c, 1977, 1979) は乳酸からの糖新生を灌流肝，肝スライス組織，肝細胞で調べているが，灌流肝での乳酸からの^{14}C-グルコースの生成は速やかで添加乳酸量に対して1時間1 g 組織あたり5.47%と14.3%の値を得ている。RENAUD and MOON (1980) は *Anguilla rostrata* の遊離肝細胞を用いた in vitro 実験で U-^{14}C-乳酸はグルコースと脂質に多く取り込まれ，グリコーゲンへの取り込みはきわめて少なかったとしている。本研究の結果と比べると，炭酸ガス生成，グルコース，脂質，グリコーゲンへの取り込み率は異なっているが，グリコーゲンへの取り込みが少ないという点では一致している。上記実験の中にもみられるようにとり込み率は濃度により影響されるであろうし，魚種や魚の状態，用いた化合物の形，実験条件によっても異なってくると考えられる。いづれにしても乳酸からのグルコース生成はマダイの肝臓においても速やかに行われ，添加乳酸がグルコース生成に利用される割合は高い。

RENAUD and MOON (1980) は in vitro 実験で乳酸からの糖新生はコーチゾールによって促進される現象が培養3時間後には認められたとしているが，2時間までは有意差を認めていない。この結果は糖新生にコーチゾールが直接関与している点を確認している点では重要であるが，本実験結果と考えあわせると，ストレス反応時初期，乳酸からの糖新生をコーチゾールが促進しているとは考えられない。

3）アミノ酸の代謝とコーチゾール

比較した3組織では肝膵臓におけるアミノ酸代謝が活発で胸鰭筋肉や腹腔内脂肪ではやや不活発であるという特徴が明らかとなった。肝膵臓ではグリシンは炭酸ガス生成（エネルギーとしての利用）に用いられる割合が非常に高いのに対しグリコーゲンとして蓄積される割合は低い。胸鰭筋肉と腹腔内脂肪組織では炭酸ガス生成，グリコーゲン生成，脂質への取り込み量はきわめて少ない。炭酸ガス生成，グリコーゲン，脂質への取り込み量と比べて，組織への取り込み量が大きいことはグリシンがエネルギーとしてよりも蛋白質やその中間代謝物として利用される割合が高いという推定の根拠となろう。

(1) アミノ酸の組織取り込みに対する効果

アミノ酸を基質とした時の物質代謝はグリシンにかぎらずロイシン，セリン，アラニン等が in vivo, in vitro 実験系で用いられている。JACKIM and LAROCHE (1973) は *Fundulus heteroclitus*

の背部筋肉蛋白質への U-^{14}C-ロイシンの取り込みを調べ、温度や酸素分圧低下（2.5ml/l以下）その他のストレスで，取り込み量は減少したと述べているがこの際コーチゾンは取り込みに何ら効果を示さなかったとしている。本実験では胸鰭筋肉でわずかに全体的な組織への取り込みの低下が認められた。Steele（1975）はラットの横隔膜筋におけるアミノ酸とり込みの抑制がコーチゾール投与後数時間以内に起ることを intact と副腎除去動物で調べた報告を紹介しており，この部分は今回のマダイ胸鰭筋肉で得られた結果と一致している。

(2)　アミノ酸からの糖新生に対する効果

Walton and Cowey（1979b）はニジマスの遊離肝細胞における U-^{14}C-セリンからの糖新生を調べ5.7μmol/hr/g という数値を報告している。これは171dpm/mg組織/hr. に相当し，本実験のグリシンによって得られた値よりかなり大きい。このセリンからの糖新生はピルビン酸や他のアミノ酸（アラニン）の存在によって増加することも報告されている。また Walton and Coway（1979a）はニジマスの肝細胞でアラニンからの糖新生を調べ乳酸からの量の1/2以下であるとしている。Hayashi and Ooshiro（1977, 1979）はウナギの灌流肝や肝細胞においてアラニンからの糖新生を確認している。グリシンの利用に関しては in vivo 系による実験が多い。Demaël-Suard et al.（1974）は *Tinca vulgaris* に 1μCi の^{14}C-グリシンを腹腔内注射し，短時間のうちに肝臓グリコーゲンやグルコースへ転換されることをみている。これらの諸報告は，魚種や実験方法，基質となるアミノ酸の種類と量などが異なるが，アミノ酸からの糖新生が速やかに行われることでは一致している。肝臓におけるグリコーゲンとしての利用や糖新生の大きさは条件によって異なっている。本研究でも肝臓におけるグリシンからのグルコース生成が速やかでその量も比較的多いことは明らかとなったが，3時間の培養でこの作用をコーチゾールが促進することはなく，in vivo 実験による糖新生促進効果とは異なった結果となっている（Inui and Yokote 1975a, b, Dave et al. 1979, Lidman et al. 1979）。コーチゾールの数日間投与による血糖増加反応とも，Chan and Woo（1978b）や Leach and Taylor（1982）のように1回投与後短時間内の血糖増加の結果とも一致しない。in vivo 実験ではコーチゾール以外の要因（エピネフリン）で血糖上昇が起こり易いことを考え合わせると，コーチゾールの作用により1，2時間内に糖新生が急に多くなることはないのであろう。

(3)　アミノ酸のグリコーゲン，脂質への取り込みに対する効果

グリシンのグリコーゲンや脂質への取り込みは Table 35 にみられるように速やかに行われ，この機能は肝臓において著しい。コーチゾールは，肝臓グリコーゲンへの取り込みを減少させる効果を示した。アミノ酸が魚類の肝臓グリコーゲンに速やかに取り込まれることは Demaël-Suard et al.（1974）が *Tinca vulgaris* で Renaud and Moon（1980）が *Anguilla rostrata* で報告した。しかし in vitro 実験系でコーチゾールがアミノ酸のグリコーゲンへの取り込みを抑制することに関する報告例はみられない。in vivo 実験系におけるコーチゾール注射と肝臓グリコーゲンの増減に関しても一定の傾向は得られていない。Storer（1967）はキンギョに200μg/g体重のコーチゾールを毎日1回4日間飢餓魚と摂餌魚にくり返し腹腔内注射をした。その結果肝臓グリコーゲン量には変化はなかったとした。Butler（1968）は脳下垂体除去手術をし

た *Anguilla rostrata* と正常魚に毎日5㎎/kg体重のコーチゾール腹腔内注射を10日間続けた時，肝臓と筋肉のグリコーゲン増加を起こしたという。INUI and YOKOTE (1975a,b) はウナギ *Anguilla japonica* に2㎎/kgのコーチゾールを毎日注射し5日と10日後に血糖，肝臓重量，肝臓グリコーゲン，GOT，GPT 活性の増加を報告したが，同時に肝臓における解糖 key 酵素の PFK 活性の著しい増加があることや血漿アミノ態窒素の増加がみられないこと等を報告し，ウナギでは体蛋白質の分解と移動にコーチゾールが果す役割はインスリンほど明確でないとしている。CHAN and WOO (1978b) は *Anguilla japonica* に1㎎/kgのコーチゾールを正常魚と脳下垂体除去魚に1回だけ注射し，その後の代謝変化を調べ，コーチゾールの作用が比較的少量の投与量で，短時間のうちに起こることを明らかにし，酸素消費量増加，呼吸商低下，血糖増加，血清 α-アミノ酸増加，肝臓 GOT 活性増加，9時間後の肝臓グリコーゲン増加，24時間後の肝臓脂肪の増加等を報告し，肝臓グリコーゲンや血糖の基になる炭素骨格は筋肉のような末梢組織からのアミノ酸や脂肪酸によると推測した。DAVE et al. (1979)，LIDMAN et al. (1979) は *Anguilla anguilla* に5㎎/kg体重のコーチゾールを毎日14日間腹腔内注射した後に，対照値と比べて血糖値と肝臓グリコーゲン量の増加を認めている。LEACH and TAYLOR (1982) は *Fundulus hateroclitus* に毎日20μg/gのコーチゾールを5日間注射した場合と1回注射の場合の物質代謝の影響を摂餌魚と飢餓魚で観察し，1回注射の場合には1時間以内に血糖増加の効果がみられること，長期多量投与の場合に肝臓グリコーゲン蓄積がみられるのは飢餓魚の場合だけであったと報告した。

コーチゾールの物質代謝に対する研究では効果が現われるまでにかなりの時間がかかること，明確な効果をみるには，コーチゾールの反復投与が必要であること，脳下垂体除去手術を行い ACTH の作用を除き体ステロイド量を低下させた個体にコーチゾールを投与する等の工夫が必要であることなどいくつかの工夫が含まれている。これらは，体内産生コーチゾールを抑制した上で添加コーチゾールの効果を観察する方法であるが，このことは，コーチゾールが微量で常時個体の物質代謝全体に重要な役割を果していることを意味し直接的反応の主体の把握を困難にしている。

4）ストレス時の血糖上昇とコーチゾール

魚のストレス時の血中コーチゾール量増加の状態は実験系としては，脳下垂体除去や長期にコーチゾールを注射した時の状態ではなく "intact" な魚に過剰なコーチゾールを投与した状態とみられ，その状態は数時間継続することになる。本実験は，この状態の初期反応の機構を理解することを目的とした。実験結果を Fig. 33 に模式的に示した。添加物質の比放射能が異なるので同一基準で比較するのは困難であるから，各基質の肝臓組織への取り込み量を1とした時の比率で示した。ここではストレス時の代謝の特徴である血糖上昇にコーチゾールが積極的に関与しているという結果は得られていない。すなわち肝臓における糖新生機能を亢進することによる血糖増加は少なくともコーチゾール増加反応初期にはないものと考えられる。ただし，基質量が多い場合にも，肝臓における取り込みや糖新生を抑制する作用はないことから，ストレス時，乳酸やアミノ酸等の基質増加がある時は，糖新生量は増加し，血糖上昇の一因となることは予想される。特に乳酸は，Fig. 33 に示されるように肝臓に取り込まれると，組織内に保持されることなくエ

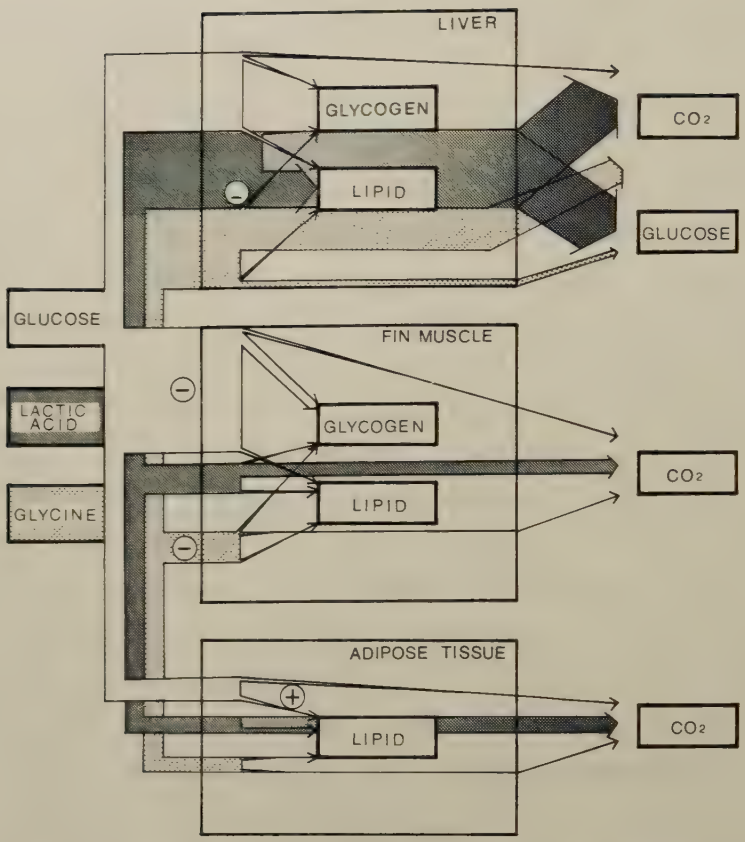


Fig. 33. Cortisol action on glucose, lactic acid and glycine metabolism observed in the red sea bream tissues in vitro. The plus or minus signs indicate stimulation or inhibition, respectively.

ネルギーとして利用されるか，あるいはグルコースへ転換される割合が高いという代謝特性から血糖上昇に寄与するものと考えられる。

また，胸鰭筋肉において，コーチゾールが基質のグルコース，グリシンの取り込み抑制効果を示したことは，結果的には血糖上昇に関与していることになろう。ただし，その抑制の程度は小さく，コーチゾールによる基質の細胞取り込みに対する直接的作用とは考え難く，条件依存的な代謝の結果と考えた方がよいであろう。

これらの結果を総合すると，ストレス時の迅速な血糖上昇反応などにコーチゾールが主役を果しているようにはみえない。コーチゾールの効果の現われる時間や効果の大きさからみて，ストレス反応初期は主にカテコーラミンが，その後の物質代謝，特にエネルギー動員にコーチゾールが関与し，一連の反応を持続させているものと考えられる。

第6節　小　括

1．ストレス時の血糖上昇機構

ストレス反応時の代謝変化を起こす直接的原因は，(1)ストレッサーによる生体組織の直接的障

害，(2)自律神経系や内分泌系の反応によって仲介される非特異的共通反応，(3) (1)や(2)の結果起こる血流停滞による組織の二次的機能低下にあるとされており，ストレス時の代謝変化は，これら直接的原因が複雑にからみあっているものであろう。本章では第2原因に関する物質代謝を扱った。これには魚の体色変化，コーチゾールやエピネフリン等のホルモンの分泌促進と循環血液中でのこれらホルモンの増加，これらホルモンの作用によって誘発される血糖量増加等の直接的代謝変化等が含まれる。

魚類でもストレス時のエピネフリン放出が交感神経支配下にあるという点に関してはいくつかの報告がみられる。Nilsson et al. (1976) はタラ *Gadus morhua* における in vivo, in vitro 実験で，頭腎のクローム親和性細胞からのエピネフリン放出が交感神経によって支配されると結論づけ，Holmgren and Nilsson (1982) は魚類における自律神経のうちアドレナリン作動性神経の主たる神経伝達物質がアドレナリンであることをみとめている。分泌されたエピネフリンは第3節と第4節に述べたように種々な代謝変化を起こす。

またストレス時に循環血中のコーチゾール量が増加することは第Ⅰ章の実験でも明らかである。このホルモンが脳下垂体から分泌される ACTH によって間腎組織から分泌されることは，Donaldson (1981) の総説に詳述されている。

本研究では第Ⅰ章で，ストレス時に血液性状にあらわれる共通の変化としてヘマトクリット値増加，血糖値増加，血清ナトリウム量変動が顕著であることから，これらを用いたストレス状態の分類を試みたが，本章では，高血糖が起こる機構を考察したい。Fig. 34 にその概要を示した。循環血中にグルコース量が増加するためには，血管以外の組織からのグルコース供給が増大する場合と，循環血中のグルコースの利用低下が起こる場合とが考えられる。物質代謝のホルモンによる制御実験はストレス時にはこの両方の反応が同時に起こっていることを示唆している。

2. グリコーゲン分解による血糖上昇

1) 肝臓グリコーゲン分解

血液中のグルコースの主たる供給源は肝臓と筋肉組織である。肝臓でのグリコーゲン分解に関する律速酵素としてはグリコーゲン・フォスフォリラーゼとグルコース-6-フォスファターゼがあげられ，循環血中のカテコーラミンが肝臓フォスフォリラーゼを活性化することは Umminger and Benziger (1975), Umminger et al. (1975) が *Ictalurus nebulosus*, *Fundulus heteroclitus* で，Vernier et Sire (1978a, b) がニジマスで報告した。活性化された酵素はグリコーゲン分解を促進しグルコースを産生する。この時，同時にエピネフリンは，本章第4節の実験結果にみられるように，グルコースからのグリコーゲン合成を抑制し，Fig. 34 の肝臓のグリコーゲンとグルコースの経路部分にみられるように結果としてグルコース産生がより強化される。コイのように肝臓にグリコーゲン・フォスフォリラーゼが見出されないとされている魚種においても (Murat 1976, Picukans and Umminger 1979) グリコーゲン分解がエピネフリンで促進されるかどうかは明らかでない。

2) 肝臓からのグルコース遊離

肝臓からのグルコース遊離がエピネフリンによって強化されることは本章第3節の結果からも

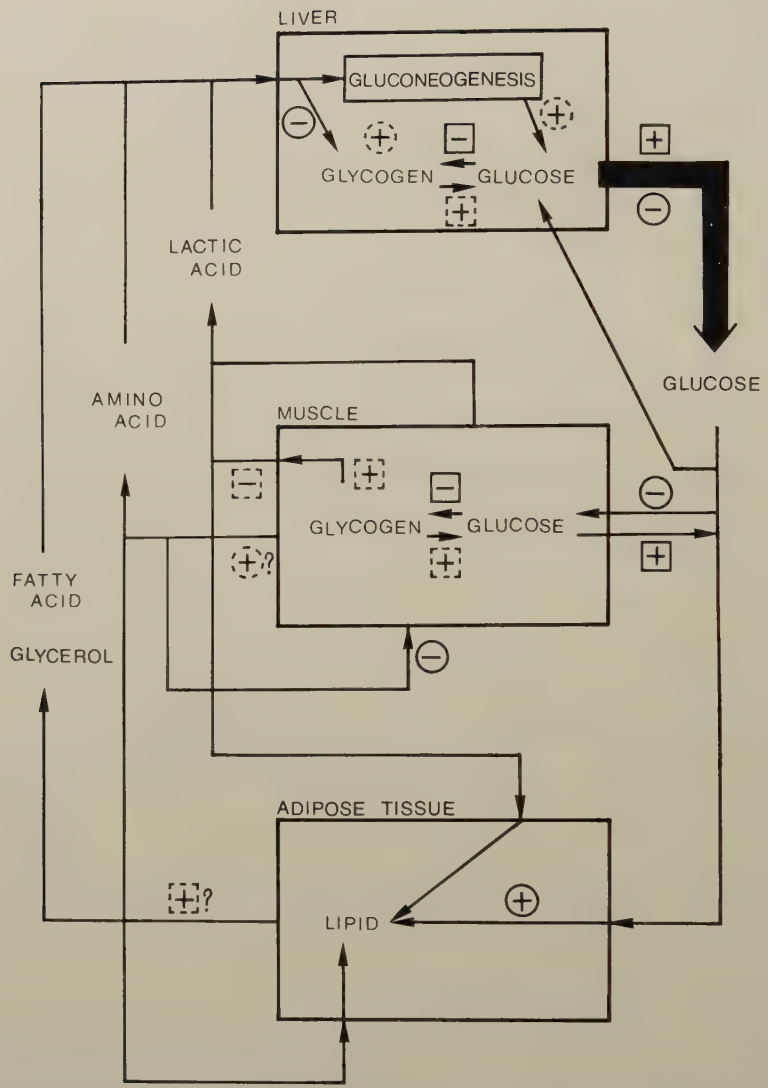


Fig. 34. Actions of catecholamine and cortisol on carbohydrate, lipid and protein metabolism of the fish. The arrows indicate the general flow of substrates reported in the fish. The plus or minus signs indicate stimulation or inhibition, respectively. The rectangle and the circle indicate catecholamine action and cortisol action, respectively. Dotted lines mean the informations according to published reports.

明らかであり，他にも報告が多い（Hayashi and Ooshiro 1975a, b, 1977, Birnbaum et al. 1976）。グルコースは，第5節の研究結果に明らかなように，肝臓組織での透過性が高いので，肝臓から外への放出には特に障壁はないものと考えられる。肝臓からのグルコース遊離を抑制するコーチゾールの作用は，短期の一過性の作用として哺乳類においても認められている（伊藤1976）が，長期にわたるコーチゾールの作用としては，むしろ糖新生によるグルコースの生成増加が考えられている。しかし第3節の結果（Fig. 32）にみられるように，コーチゾールによるグルコ

ース遊離抑制の程度は小さく，組織のグルコース遊離能力（グリコーゲン量）に関係なく一定の値を示したので，エピネフリン濃度の高い時は，全体としてグルコース遊離増加が起こるものと考えられる。

3) 筋肉グリコーゲンからのグルコース生成とその放出

筋肉組織においてもエピネフリン存在下に貯臓グリコーゲンのグルコースへの分解が促進されることは WITTENBERGER et al. (1975) の報告にみられるが，第3節におけるマダイ予備実験でもこの傾向が認められた。すなわち，胸鰭筋肉剝離標本を3 mlのクレブス氏重炭酸緩衝液に入れ30μg のエピネフリンを添加し1時間の振盪培養を行った後緩衝液中のグルコースを定量した時，対照区0.67mg/g に対して0.98mg/g の値を得た。

3. 糖 新 生

血糖上昇との関係で，ストレス時の血液性状の変化として報告されているものの中に糖新生の基質となるものが多いことに注目したい。魚類でアミノ酸，乳酸，脂肪酸，グリセロールからの糖新生が行われていることは，第5節で考察した。

1) 乳酸からの糖新生

魚類の筋肉における乳酸生成に関しては，よく知られており，輸送（林1977），捕獲（DANDO, 1969），強制運動（DRIEDZIC and HOCHACHKA 1976），酸素低下時（BURTON and SPEHAR 1971, JOHNSTON 1975a, b, DRIEDZIC and HOCHACHKA 1975, THILLART et al. 1976），生物学的ストレス：魚種間競合，闘争（GRONOW 1974）の時に筋肉特に白筋中の乳酸量が増加することが報告されている。この乳酸生成の機構は筋肉のグリコーゲンの嫌気的分解によるとされ，ストレス時の共通的反応であるかどうかは疑問としても，ストレス時の逃避行動を含む反射的な急激な運動や，エピネフリン増加時の血管系の収縮や血流量減少等による組織の低酸素状態への移行等は，乳酸の生成を促進すると考えられるので，血液中の乳酸は平常時よりは増加するものと考えられる。筋肉中で生産された乳酸の血液中への放出は，WARDLE (1978) が考察したようにエピネフリンによって抑制され，筋肉に大量に保持されることになり，血液 pH の急激な変化は避けられる。血中に放出された乳酸は主に肝臓で代謝されるが，代謝は極めて早く，炭酸ガスとしてエネルギー生成に使われるか，糖新生経路を経てグルコースとして再利用される。肝臓組織内に他の中間代謝物として保持されたり，グリコーゲンに転換されたりする割合は少なく，これはストレス時の解糖経路の亢進を抑制する要因とはなりにくい。第5節の実験結果にみられるように，肝臓，筋肉，腹腔内脂肪組織での短時間内の乳酸の取り込みや利用に関して，エピネフリン，コーチゾールの積極的関与は認められないが，抑制的効果もみられないので，血中に増加する乳酸からの糖新生は基質濃度依存的に進行するものと考えられ，これはストレス時の高血糖の直接的原因となろう。魚類でコーチゾールによる乳酸からの糖新生系の強化が起こっていることを直接 in vitro 系で証明した例としては RENAUD and MOON (1980) の報告があり，ストレス時の後期（数時間以降）の血糖上昇には，このホルモンの積極的関与の可能性も考えられる。

2) アミノ酸からの糖新生

アミノ酸は魚類で糖新生の重要な基質であるが (LOVE 1980)，筋肉等組織での蛋白質分解によ

り遊離したアミノ酸の動員機構がストレス時に起こるか否かについては魚類では明らかでない。コーチゾール投与実験における窒素排泄増加（Storer 1967, Chan and Woo 1978）はこれを裏づけているようにも考えられるが Inui and Yokote（1975a）のように血漿アミノ酸の変動を認めていない報告もある。しかし第5節のグリシン基質の実験結果にみられるように胸鰭筋肉組織におけるアミノ酸の取り込みは抑制されており，このことは筋肉における血液中アミノ酸の積極的利用がないことを意味し，結果的に肝臓で代謝される基質としてのアミノ酸をわずかでも増大させることにつながると考えられる。

肝臓におけるアミノ酸からの糖新生に対するコーチゾールの影響については魚の場合，未だ報告がみられず，長期の in vivo 投与実験で推定されているだけである（第5節）。肝臓においてアミノ酸からのグリコーゲン合成が抑制されるという本章第5節の結果は，コーチゾール作用時に肝臓グリコーゲンが増加するという in vivo の諸報告（Lidman et al. 1979, Leach and Taylor 1982）とは相反する。反応初期だけの現象なのかどうか判然としない。Fig. 33 にはとり込んだアミノ酸から直接グリコーゲンへの経路が描かれているが，これは脱アミノされたアミノ酸の炭素骨格のグリコーゲンへの取り込みが減少したということであり，その間の経路は不明であるので，これがどのような意味を持つのか今後の研究が必要であろう。

3）脂肪酸・グリセロールからの糖新生

脂肪酸がエピネフリンの影響によって末梢組織から血液中に動員されることについては，第3節で考察したように in vivo, in vitro 実験結果から増加，あるいは変化なしで明確な結果は得られていないが，動員抑制の報告は少ない。脂肪酸の炭素骨格がグリコーゲンやグルコースへ入ることは予想されるがその経路は魚類では明らかでない。

グリセロールは Renaud and Moon（1980）の結果によれば糖新生の基質として効率的に利用され重要であるがストレス時にこの成分が増加することに関しての情報はない。

4.　血糖利用組織への取り込み・利用の抑制

循環血中のグルコースの取り込みや利用に関しては，Fig. 34 の筋肉組織にみられるように，平常時にグルコースからグリコーゲンへ大量に転換される経路はエピネフリンによって抑制されグリコーゲン分解は一層促進される。これは主として赤筋における反応結果であるが，Wittenberger et al.（1975）が報告しているように，白筋でのグルコース利用が赤筋との共同作用によって持続しており，白筋が急速な運動時に機能するとすれば（Love, 1980），グルコースは白筋で有効に利用されるようにストレス時の代謝は進行していることになる。このことは，コーチゾールによって胸鰭筋肉におけるグルコース取り込み抑制が起こっていることとは矛盾しているが，その抑制程度が小さいことと，炭酸ガス生成をはじめ他の代謝の大きさには全く変化がないことを考え合わせると，ストレス時にはエピネフリンの作用が大きく発現するものと考えられる。いずれにせよグルコースの筋肉における取り込み抑制は，結果的に循環血中グルコース量を増加させる要因となろう。

以上，本研究の実験結果および魚類で研究された諸報告をまとめて，ストレス時の血糖増加が

エピネフリン，コーチゾールによって促進されることを考察した。中でも，ストレス時にはエピネフリンの支配下の，肝臓，筋肉からのグリコーゲン分解によるグルコース遊離は，反応の大きさや速度，ホルモンによる反応支配の確実さ等からみて，ストレッサーを受けた直後少なくとも数時間は乳酸，アミノ酸，グリセロール等からの肝臓における糖新生や肝臓以外の組織における血糖取り込み抑制による血糖値の上昇以上に重要な意味を持つと考えられた。このことは，ストレス時の血糖増加速度や血糖増加量が，本章第2節で考察したように，飢餓あるいは栄養過剰のような魚の状態によって左右されることを予想させる。

第III章　総　　括

1.　ストレス反応の定義

“ストレス”という語は明確な定義によらず，漠然とした概念で利用されることが多い。特に科学的用語というよりも一般的，社会的に通用している用語であるだけにその混乱も大きい。ある場合には，ストレス反応を起こす要因（ストレッサー）の意味で使われ，ある場合には個体，群，生態系の反応（ストレス）を指している。

魚類研究の分野でも“ストレス”には大きな関心が寄せられ，種々な角度から研究されるようになったが，概念を厳密に統合しようとするよりも，多少の相異は含みながら広義な概念のままに研究が続けられている。

PICKERING (1981) はこの混乱を指摘し，一般的な言葉の使われ方から，“ストレス”を“刺激”，これに応じて起こる反応を“ストレス反応”と呼ぶことを提唱している。

“ストレス”を最初に使用した SELYE (1950) は，「ストレスは個体が外部から加えられる各種の刺激に対して内部環境を維持するために起こす生理学的反応（汎適応症候群）」と定義している。しかし，一般的にはこの定義によって“ストレス”が厳密に使用されているわけではなく，“stress”の語源から，「生物体内に生じた生理学的歪み」，すなわち，「外部から加えられた各種の刺激に応じて個体の体内に生じた障害と防衛反応の総和」と考えられている場合が多い。本論文でもこの一般的解釈に沿ってストレス反応を扱っている。この時，個体の体外から加わりストレス反応を起こす各種の刺激をストレッサー（stressor）という場合も多い。

生物は常に何らかの刺激に曝され，それに対する反応を継続しながら生存しており，その刺激量が多くなったり急激に変化したり，異質なものになったりすると，その新たな刺激に適応しようとする反応が起こり，その刺激の種類と量によっては完全に適応することも可能である。SELYE (1973) はこの考え方を明確にするために，汎適応症候群を相に分け，それぞれに警告相（alarm phase），抵抗相（resistance phase），疲弊相（exhaustive phase）と名付け，ストレス反応の経過を説明しようとした。alarm phase では新しい刺激に急速に対応するためのホルモン放出を含む反応が特徴的であり，次の resistance phase は生理学的失調回復の努力が行われる時相であり，exhaustive phase は不可逆的生理学的失調が認められる相である。SELYE のこの考え方や相の名付け方は，生物の動的な生理学的反応を明確に表現しており，適応の概念を根底に含んでいる

ものの，個体が刺激をうけ危機に陥入っているという疾病的感覚が強いという特徴がある。

適応という概念を強くうち出した考え方としては，小坂（1981）が温度ストレスに対する生体反応として，急性反応（環境刺激が生体に加わる時，短い潜時で神経調節により誘発される急峻な反応），慢性反応（神経性調節に遅れて起こる内分泌器官の活動で脳下垂体—副腎皮質系を軸とした液性調節反応），器質性変化（刺激が長期に継続する時，体内に器質的変化が生じ形態の変化等も伴なう）の３種類を時間軸に沿って分類しており，受け入れやすい考え方である。

魚類生理学の分野でも，最近になってストレス反応に関する研究が，SELYE の考え方を下敷きに，主に短期間に起こる生体反応を中心に進められており，複合的な生理学的諸反応を総合・分類する試みも行われるようになった。MAZEAUD et al.（1977）はカテコーラミンやコルチコステロイドの血中放出のようなホルモン遊離の反応を一次反応（primary reaction），それ以外の血糖値上昇，無機塩の変動，水分の移動のような生理学的諸反応を二次反応（secondary reaction）とする考え方をうち出した。また，WEDEMEYER and MCLEAY（1981）は，この考え方をさらに進めて，a）第１次変化（primary alterations），b）第２次変化（secondary alterations, physiological），c）第３次変化（tertiary effects）という考え方を示している。a, b はそれぞれ MAZEAUD et al. の第１次反応，第２次反応に相当するが，第３次変化として個体の成長，変態，成熟，疾病に対する影響や問題まで含めた反応を考えている点に特徴がある。これらの考え方は魚の適応反応を分類するというよりも，魚の生理学的反応を種類や反応の時間的経過によって分けた便宜的な分類の方法である。

本研究では第Ⅰ章で試みたように，血液性状に表われる動的変化を総合的に把握し，種々な刺激が与えられた時の魚の一般的ストレス状態を把握する目的でストレス反応の分類を試みた。

魚類のストレス反応研究において顕著な点は，(1)哺乳動物とは異なり，長期にわたって個体の生理学的反応を追跡することが，生理学的本質（変温動物で水中生活をしている）からも技術的にも困難であるため，時間軸に沿った反応の分離や分類が困難であること。(2)実用的に魚を食物として，あるいは環境のモニター生物として利用しようとする考え方から，個体の生理学的反応を利用しようという考え方が強いことである。

2.　ストレッサーとストレス反応

魚類におけるストレス反応の研究は比較的最近になって研究の意図を明確にして行われるようになったが，その研究目的がストレス反応そのものに焦点を合わせていなくても，生理学的な負荷をかけた時の生体の反応を調べた研究の中から多くの情報を得ることができる。魚類で研究されたストレッサーとストレス反応の中で最も多いものは，第Ⅰ章でも中心課題とした環境要因をストレッサーとした時の反応である。

温度と魚類の生理学的反応に関する研究は大別すると急激な温度変化に対して短時間内に起こる過渡的生理学的な適応反応と順応反応に分けられる。

ストレス反応として報告されているものには，血液中コーチゾール量増加，血液中グルコース量増加，クロライド，ナトリウム量等無機成分の変動に関するものが多い（HOUSTON 1962, HICKMAN et al. 1964, HOUSTON 1968, UMMINGER 1971, ALLANSON et al. 1971, STANLEY and

Colby 1971, Wedemeyer 1973, Farghaly et al. 1973, Pickford et al. 1974, La Combe and Creach 1974, Fryer 1975, Murat and Parent 1975, Catlett and Millich 1976, Demaël et Garin 1978, Perrier et al. 1979, 石岡 1980a, Parent et al. 1981)。これらはストレス時のホルモンの血中放出と炭水化物代謝変化および浸透圧攪乱の現象を示している。血液性状の変動 (Ball and Slicher 1962, Houston and DeWilde 1969, Farghaly et al. 1973, Pickford et al. 1974, Catlett and Millich 1976, Srivastava and Agrawal 1977) の観察例で，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量の変動があるが，これは浸透圧調節攪乱によって生じた水分の移動やホルモン，神経刺激による血管系や脾臓収縮の結果とみられる血球放出や移動の複合的反応の結果と考えられる。温度低下刺激を与えた時，Pickford et al. 1974 が *Fundulus heteroclitus* で，Ball and Slicher 1962 が *Mollienesia latipinna* で，Srivastava and Agrawal 1977 が *Colisa fasciatus* で報告している白血球系細胞の短時間の一時的変動は，このストレッサーが，ホルモンを介して魚の細網内皮系の反応を誘起していると考えられるが，直接的な証明の報告は得られていない。

温度変化刺激に対する魚の反応としては，この他に自律神経支配下の反応が多く報告されている。これらはストレス反応というよりも短期間に起こる生理学的調節作用とでもいう性格の反応である。Cameron (1976) は *Thymallus arcticus* で10℃から17℃への温度上昇時の鰓におけるナトリウムとクロライドの取り込み増加を報告し，Payan and Matty (1975) はニジマスを17℃から7℃の水温低下状態においた時の鰓におけるアンモニア排泄低下を報告した。Mackay (1974)はキンギョが10℃から20℃の温度上昇によって尿量が増加しナトリウム，クロライドの再吸収が低下したとし，Burton (1979) は *Trinectes maculatus* 等の暖水性汽水魚が5℃の水温上昇によって換水量を増加させたとし，Heath and Hughes (1973) はニジマスの温度上昇時の心拍数，血圧，呼吸数の増加を，Hughes and Roberts (1970) はニジマスの温度上昇時の呼吸数，心拍数の増加を報告している。これらの反応は一般的には温度上昇に対しては亢進的反応，温度低下に対しては抑制的反応として現われ，変温動物の適応的反応と考えられるものでストレス反応とは判断しないことが多い。

これら諸報告や実験結果で興味ある点は，反応の時間的尺度である。温度に対する順応反応をみる場合には週，月，季節の単位が，また，ストレス反応も含む調節反応は，分，時間，日が単位となっている。そして，短期の調節反応には前述のように炭水化物や血液中無機塩量の変化，自律神経支配下の諸反応が含まれ，後者には蛋白質や酵素のような成分の変化，形態，生態変化等が主として含まれている。

魚類が外部環境水の塩分変化に対してとる体内浸透圧維持のための調整は(1)海水の嚥下作用の調節，(2)体表粘液増加による調節，(3)消化管壁における吸収の調節，(4)腎臓における排泄機能変化による調節，(5)鰓における吸収，排泄機能変化による調節，(6)これらを全体的に制御する脳下垂体機能変化等によって行われている。これらの反応は大別して急激な塩分変化への対応と順応的変化に分けられ，このうち後者としては鰓，消化管，腎臓等の組織学的変化や酵素化学的変化を観察している例が多い。急激な塩分変化への対応のうちストレス反応として研究されている内

容には第Ⅰ章第3節で扱かったような血液性状や成分に関する報告が多い。なかでも，このストレッサーは淡水産，海産を問わず，直接，魚体内の浸透圧変化を起こす要因でもあるので，血液や体組織（主に筋肉）のナトリウム，クロライド量のような電解質や浸透圧の変化に関する報告が多い（Gordon 1959, Parry 1961, Stanley and Fleming 1965, Chan et al. 1967, Yamashita 1970, 板沢・早川1972, Davis and Simco 1976, 小栗・大島1977, Eddy and Bath 1979, Bath and Eddy 1979, Logan et al. 1980, Maceina et al. 1980, 石岡 1980b, Woo and Fung 1981, Hegab and Hanke 1982, Gupta and Hanke 1982)。また，急激な浸透圧変化の結果を重量変化でみている例もある（Jackson 1981, 尾崎・菊地1972, 板沢・早川1972)。さらにこの浸透圧調節に関与するとされるホルモン，コーチゾールやプロラクチンの変動を調べた報告も多い（Nishimura et al. 1976, Henderson et al. 1976, Fagerlund 1967, Singley and Chavin 1975, Forrest et al. 1973, Ball et al. 1971, Hirano 1969)。コーチゾールは淡水魚を海水に入れた時に急激に増加する浸透圧調節ホルモンとして知られているが，Forrest et al. (1973), Ball et al. (1971) は適応が完了すると血中濃度は低下するとしており，ストレス反応と考えてもよいように思える。しかし本研究におけるように急激な塩分の上昇下降の変化は明らかに血中コーチゾールの増加を伴なうことからストレス反応と考えられるが，適応的な反応の場合には一般的にストレス反応とは考えられていない。いずれにしてもこれらの反応は浸透圧調節部位へのエネルギー供給の必要性とその在り方を示唆している。そして，これら諸反応も時間軸に沿ってみれば，主に分，時間，日，週が単位となっており，これより長い時間単位で測定される反応は順応反応として扱われている。

酸素分圧の変化に対する魚類の生理学的反応としては，血液性状の変化に関するものが圧倒的に多い。長期間にわたる順応的変化を除いて，測定された内容は主として外部環境の酸素分圧低下に伴なって起こる魚体の嫌気代謝の内容を明らかにしようとする観点から解析されている。特にこのストレッサーの場合には，共通のストレス反応に附随して起こる二次的な組織の血液灌流低下による酸素欠乏と全く同じ条件であるため，ストレッサーによる特異的反応とストレス反応の弁別を行うことは困難である。内分泌系の反応である低酸素時の血中コーチゾール増加は Demaël et Garin (1978), Tomasso et al. (1982), 石岡 (1982) によって，また，アドレナリンの増加は Mazeaud and Mazeaud (1981) の報告にみられる。

この他の生理学的諸反応を機能の面で分類してみると血液—呼吸機能の変化に関するものが多い。本研究第Ⅰ章第4節に述べたヘモグロビン量，ヘマトクリット値や赤血球数の増加の報告は淡水魚，海産魚を問わず多い（Hall et al. 1926, Holeton and Randall 1967, Prosser et al. 1970, Wood and Johansen 1972, Swift and Lloyd 1974, Kirk 1974, Hattingh 1976, Scott and Rogers 1981, 石岡1982)。血液中のこれら成分の増加は脾臓からの血球放出，血液水分の移動，血球膨潤等が考えられるが，これらの反応は後述するように，少なくとも一部はエピネフリンによって誘発されている可能性があり，これによって組織への酸素供給の増大が行われていると考えられる。また，これと関連して浸透圧調節機能の変化（血液水分の移動）が起こっていることは血液浸透圧，水分量，血液中ナトリウム，クロライド量の変動からもうかがえる（Hall et al. 1926, Meyer et al. 1954, Hunn 1969, Kirk 1974, Walker and Johansen

1977)。さらに物質代謝面では血糖，血液や筋肉中乳酸，肝臓や筋肉グリコーゲン，ピルビン酸，コハク酸等に変動が認められており（Holeton and Randall 1967, Wittenberger 1968, Burton and Spehar 1971, Demaël-Suard 1972, Wood and Johansen 1972, Kirk 1974, Driedzic and Hochachka 1975, Jhonston 1975a, b, Hardisty et al. 1976, Hattingh 1976, Thillart et al. 1976, Demaël et Garin 1978, Walker and Johansen 1977, Burton and Heath 1980, Scott and Rogers 1981），特に低酸素時の血糖や血中乳酸増加は主に筋肉と肝臓のグリコーゲン分解によると推測されている。

明確なストレッサーとしての位置ずけで研究されているものには，第Ⅰ章第5節，第6節で述べた取り扱い，輸送（石岡 1984b），麻酔時のストレス反応がある。しかし，第Ⅰ章で述べたようにこれらストレッサーは生理学的要因の面からみると，窒息，嫌気的筋肉運動その他の要因の複合体であり，そのストレス反応には共通のものがみられる。取り扱いストレスによる反応としては血液性状の変化に関する報告が多く，第Ⅰ章第5節第6節で述べたように，コーチゾールやエピネフリン量増加，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量増加，血糖・血液乳酸量の増加，血液中ナトリウムやクロライド量，浸透圧の変動が共通している。この他に呼吸数，心拍数，酸素消費量（Leivestad et al. 1957, Randall 1962, Houston et al. 1971）にも大きな変動がみられているが，その変動は必ずしも一定の方向を示さずストレッサーの種類や魚種により異っている。

種々な化学物質の生物に対する毒性を調べる目的の研究の中で，これをストレッサーと考えた時の反応は，酸，塩基，アンモニウムイオン，塩素，重金属類，ホルマリン，漂白パルプ廃液等での報告がみられる。硫酸，硝酸，塩酸等による飼育水 pH 低下時のストレス反応の報告例はないが，飼育水 pH 低下は鰓における Na^+ と H^+, HCO_3^- と Cl^- の交換にかかわる機能失調を起こし，淡水魚では血液浸透圧失調が著しいとされている（McDonald et al. 1980, McWilliams 1980, Ultsch et al. 1981, McDonald and Wood 1981）。この他，Murthy et al.（1980）はティラピアで急激な飼育水の pH 低下時に赤筋のグリコーゲンが増加し白筋のそれが低下した現象をみており，炭水化物代謝の変動を示すものと考えられる。Milligan and Wood（1982）はニジマスで心拍数増加やヘマトクリット値の増加をみており，これらはストレス反応の一部を把握しているものと考えられる。アンモニウムをストレッサーとした時の興味ある報告は Tomasso et al.（1980）の *Ictalurus punctatus* における血漿ナトリウム量の低下に示される浸透圧失調と Arillo et al.（1981）のニジマスにおけるレニン活性増加と稀釈尿である。これがストレス反応であるのかアンモニアによる特異的反応であるのか区別はできない。塩素の毒性についてはその酸化能から鰓でヘモグロビンを methemoglobin に変えるため組織の酸素欠乏を起こし代償的にヘマトクリット値増加が起るとされている（Block 1977, Buckley 1976）が，Zeitoun et al.（1977）は血漿無機塩濃度が血液濃縮のため増加したとし，このストレッサーが血液性状や浸透圧調節機能に大きな影響を与えているとしている。重金属では銅，亜鉛，カドミウム，クローム，水銀などについての毒性研究報告が多く，これらはストレッサーとして共通の反応をひき起こしていることがうかがえる。Strik et al.（1975）は6価クロームに曝露された時，魚の血液ナトリウムイオンやグルコース量，ヘマトクリット値，ヘモグロビン量が増加したとし，

Donaldson and Dye (1975) は10^{-6}M 程度の硫酸銅溶液の中の魚は血中コルチコステロイド濃度の上昇を示したと報告した。Schreck and Lorz (1978) は銅処理の場合には著しくコーチゾール量は増加するが，カドミウム処理の場合にはそれが致死濃度でも，血中コーチゾール量増加は認められなかったとしている。Waiwood (1980) はニジマスを硫酸銅溶液に入れた時ヘマトクリット値の増加をみており，Stagg and Shuttleworth (1982) は *Platichthys flesus* を銅イオンに曝露した時，浸透圧調節機能が損なわれて血液中ナトリウム，クロライド量が変動すると報告した。これらは一部は重金属の鰓への直接作用によるものとみられるが，ストレッサーとして共通の内分泌系の反応や他の生理学的変化を起こしていることを示唆している。さらに O'Neill (1981)は *Salmo trutta* を銅，クローム，ニッケル，亜鉛等に曝露した後の免疫応答を問題にした。この他，化学物質としてはホルマリン，漂白パルプ工場廃液等が，血液の酸，塩基平衡の失調，血液中コーチゾール量増加，血糖値増加等の反応を起していることは，Wedemeyer (1971), McLeay (1973b, 1977), McLeay and Brown (1974, 1975, 1979), McLeay and Gordon (1977) の報告に述べられている。

その他の興味深いストレッサーとしては，生物学的ストレッサーとよばれるものがあり，最近になって報告がみられるようになった。高密度飼育が“ストレス”となっているらしいことは一般的に知られているが，これが生理学的なストレス反応を起こしていることが報告されている。Wedemeyer (1976) はギンザケとニジマスについて魚を移して高密度で飼育すると血糖値の増加現象が1週間以上も続くと報告した。Burton and Murray (1979), Murray and Burton (1979) はキンギョの高密度飼育時の血液性状を調べ，ヘモグロビン量とヘマトクリット値が低下し，血球沈降速度は増加の傾向にあり，赤血球数と栓球数は減少し，リンパ球と全白血球系細胞の割合は増加し，赤血球の大きさは小さくなったと述べている。このことはさらに *Ictalurus punctatus* でも認められた (Murray, 1980)。Fagerlund et al. (1981) は *Oncorhynchus kisutch* の高密度飼育の結果，成長抑制，体水分量増加，脂肪と蛋白質含量の低下，間腎組織細胞の核径の増大等を報告した。これらは長期間にわたるストレス反応も含んでおり，その影響の大きさが推測される。

また，攻撃性の強い魚で，強弱の個体を狭い水槽で同時に飼育した時のストレス反応に関しての報告もみられる。Erickson (1967) は *Lepomis gibbosus* をグループで飼育し，その中での魚体の強さの順位と間腎組織量が負の相関々係にあることを報告し，Gronow (1974) は“Biologischen Stress”で背部筋肉中の乳酸，ピルビン酸，glucose-6-phosphate が増加したという。Noakes and Leatherland (1977) はニジマスで劣位の個体の間腎細胞の活性は高かったとしている。Ejike and Schreck (1980)は *Oncorhynchus kisutch* で弱い魚群は肝臓グリコーゲン量が少なく，血漿コーチゾール濃度が高く，間腎細胞の核径が大きかったとしている。Peters et al. (1980a, b) は *Anguilla anguilla* で弱い魚では血中コーチゾール濃度は増加し，血糖，血中乳酸量の増加と肝臓グリコーゲン量の減少がみられたとし，白血球数は増加したとしている。さらに，Peters (1982) は弱いウナギの消化官系の組織学的検査を行い，胃や消化管の萎縮や変性を認めている。これらの諸報告は，魚種にもよるが，群の中で劣位にある個体は強いストレスを

Table 36. Stressors and stress responses observed in the fish.

Stressors	Stress responses	
Temperature Salinity Dissolved oxygen	Primary effect	Activation of endocrine system (Release of hormones into the circulatory system and into the target tissue) ACTH Catecholamines Corticosteroids
Handling Transportation Forced exercise Anesthesia Chemical substances NH^+ H^+ Cl^- heavy metals (Hg, Zn, Cd, Cu) pulp mill effluent Biological stress rearing density social stress Others electric shock	Secondary effect	Disturbance of carbohydrate metabolism Hyperglycemia Hyperlactemia Decrease of liver and muscle glycogen Disturbance of osmotic regulation Change of plasma sodium and chloride levels Change of body weight Change of tissue water content Hematological alterations Change of hematocrit value Change of hemoglobin level Change of leucocyte number Change of physiological responses under autonomic nervous system Contraction or dilation of vascular system Change of heart beat Change of respiration rate Change of gill blood flow Melanophore aggregation etc. (Immunosuppression)

急性にも慢性にも受けていることを示している。

これら魚類で報告された種々なストレッサーとストレス反応を大まかに MAZEAUD et al. (1977) の分類で分ければ Table 36 のようになる。すなわち，種々なストレッサーによって魚類に共通に認められるストレス反応は，内分泌系の反応としてはカテコーラミン，コルチコステロイドの血液中での増加が，それ以外の生理学的反応としては，炭水化物代謝の変調，浸透圧調節機能攪乱，血液性状変化，自律神経支配下諸反応の変化，その他の行動変化や免疫応答の変化等である。

3. ストレス関与ホルモンとストレス反応

第Ⅰ章では，マダイに関しても温度，塩分，酸素分圧の変動がストレッサーとなること，この時のストレス反応が血糖増加，ヘマトクリット値増加，血清ナトリウム量の変動に顕著に現われ，これらの値の組み合わせによって強度や種類のわかっていないストレッサーに曝された魚のスト

ンス状態の判定が可能であることを明らかにした。この3成分はそれぞれ Table 36 の中では第一次変化の炭水化物代謝攪乱，血液性状変化，浸透圧調節機能失調を代表するものとなっている。ここで，これらの変化とホルモンの作用がどのような関係にあるのかを考察するためその概要を Fig. 35 に示した。ストレッサーが魚体に加えられた時，その刺激は神経を経て，あるいは液性刺激として脳に伝達される。脳内では視床下部から CRF（コルチコトロピン放出因子）が出され脳下垂体を刺激し，ここから ACTH（副腎皮質刺激ホルモン）が分泌されることは，FRYER and PETER (1977a, b, c) によってキンギョで確かめられた。ACTH が間腎組織を活性化しコーチゾールを遊離することは，OGURI (1960a), HIRANO (1969) によってキンギョやウナギについて報告されている。さらに間腎組織でコーチゾールが合成されることは PHILLIPS and MULROW (1959), SANDOR et al. (1966) によって *Fundulus heteroclitus*, *Anguilla anguilla* でのトレーサー実験によって証明されている。また JURANI et al. (1972) はニジマスでストレッサーを与えてからコーチゾール分泌までの経路 (Fig. 35) を確認している。一方，エピネフリンの分泌が頭腎部分にあるクローム親和細胞から行われることはよく知られているが，カテコーラミンが交感神経による刺激によって遊離されることは NILSSON et al. (1976), ABRAHAMSSON (1979) によって，*Gadus morhua*, *Squalus acanthias* について報告された。これら分泌されたホルモンは種々な標的組織で種々な反応をひき起こす。まずカテコールアミン，特にエピネフリンによる体表の色素胞の凝集・拡散はよく知られているが，これは循環血中のエピネフリンによるよりも交感神経繊維末端からの神経伝達物質アドレナリンの作用と考えられており (Iga 1978)，この部分は Fig. 35 には示されていない。血液循環系に対する作用に関しては比較的報告が多く，鰓，心臓，内臓の血管系で報告がみられる。鰓の血管系に対するアドレナリンの影響としては，ニジマス鰓の血管容量の減少や灌流量の増加 (GIRARD and PAYAN 1976)，*Ictalurus punctatus* の鰓における赤血球の分布の鰓葉への偏より (HOLBERT et al. 1979)，*Gadus morhua* における血管系の収縮や拡張 (WAHLQVIST 1980)，ニジマス鰓血管抵抗性の増加 (PÄRT et al. 1982) 等が報告され，心臓血管系や呼吸系では *Anguilla anguilla* における hyperventilation とそれにひきつづく動脈血酸素分圧増加や減少 (PEYRAUD-WAITZENEGGER 1977, PEYRAUD-WAITZENEGGER et al. 1980)，ニジマスの背部動脈における酸素量増加 (NIKINMAA 1982)，*Perca fluviatilis* における心拍数低下 (TIRRI and RIPPATTI 1982) 等が報告されている。また内臓血管系としては *Anguilla japonica* の肝臓における灌流量低下 (HAYASHI and OOSHIRO 1977) の報告がみられる。脾臓の収縮については，直接エピネフリンの影響を観察した例はないが，YAMAMOTO et al. (1980) のハマチの実験例にみられるように強制運動や酸素低下ストレス時に観察されているところから推測される。これら諸報告ではアドレナリンが1つの器官に作用しても，反応の方向が両方向みられる場合があり，これは標的器官における receptor の問題として論議されており，魚類では水温や季節等との関係もあり，今後に残された問題となっている。ここでは血液性状にあらわれるヘマトクリット値増加の直接の要因の1つとして，エピネフリンによる血管系の収縮拡張とそのための血球の偏在，心拍数変化，脾臓収縮による貯臓血球の放出等血管系筋肉への作用があることを指摘したい。

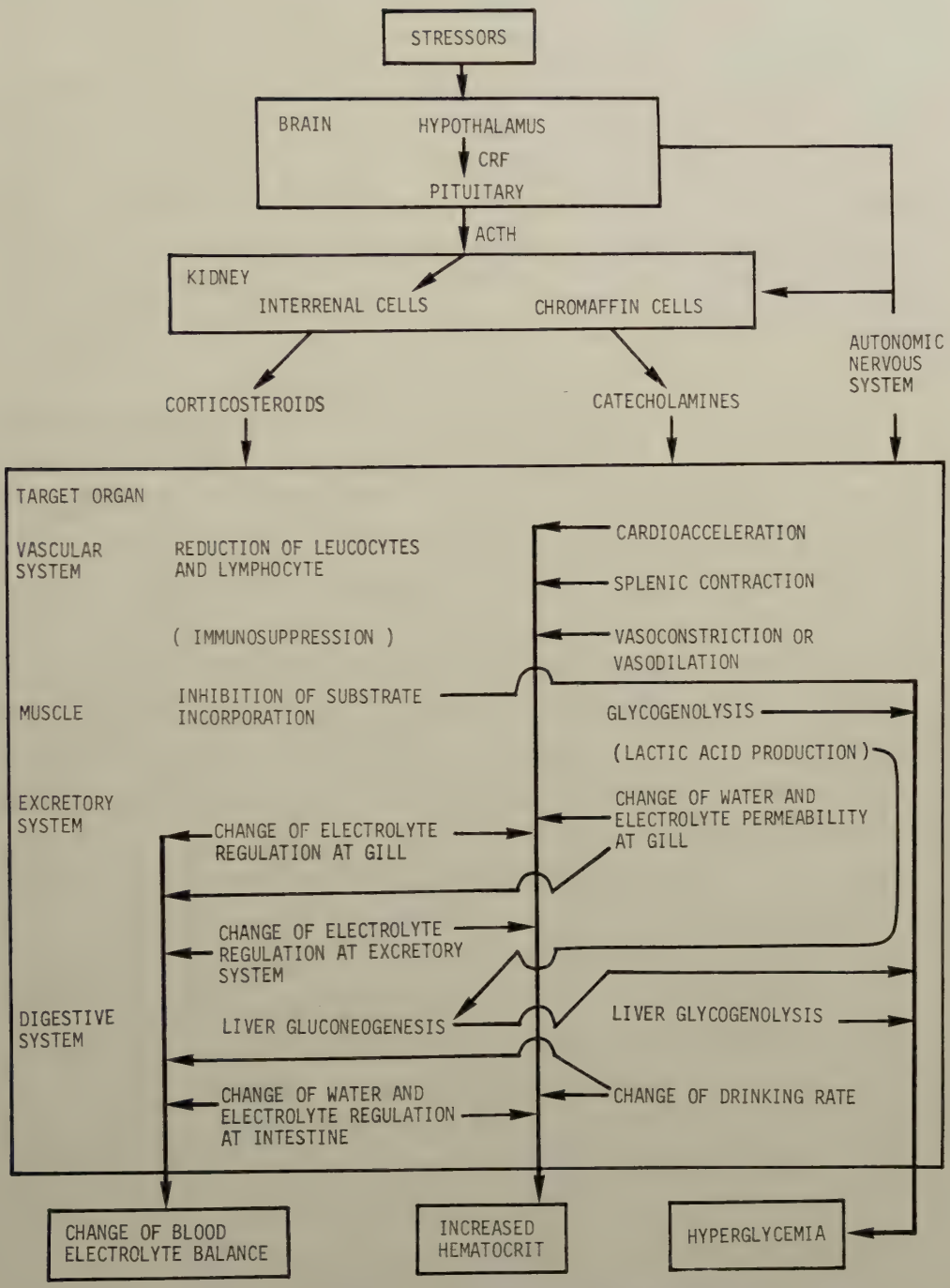


Fig. 35. Proposed sequence of events through which stressors may exert their hematological effects (hyperglycemia, increased hematocrit value and change of blood electrolyte balance).

筋肉においては第Ⅱ章第6節で考察したように貯臓グリコーゲンの分解によるグルコースの生成と嫌気的代謝による乳酸の生成が，前者は直接循環系に入って後者は肝臓で糖新生経路を経て，共に高血糖の原因となっている。また，エピネフリンが鰓における水，ナトリウム，クロライドの透過性を直接的に左右する作用を持つことは Pic et al. (1974), Pic et al. (1975), Girard and Payan (1980) の報告にみられる。これらは，ヘマトクリット値増加の遠因となると同時に血液中ナトリウムやクロライド量が変動する要因となろう。

肝臓組織では，第Ⅱ章で考察したようにエピネフリンはグリコーゲン分解を促進し，合成を抑制することによって炭水化物代謝に大きな影響を与え，肝臓のグリコーゲンは減少し，その結果として高血糖を起こすこととなる。また，海産魚ではアドレナリンは海水の嚥下作用を減少させるとされ (Pic et al. 1974, 1975) これもヘマトクリット値増加，血中ナトリウム量変動の原因となろう。

一方のコルチコステロイド（主としてコーチゾール）もそれぞれの標的組織で大きな変化を起している。循環系に関しては，白血球やリンパ球の減少がコーチゾール投与によって起こることが *Oncorhynchus kisutch* で McLeay (1973a) が，*Anguilla anguilla* で Johansson-Sjöbeck et al. (1978) が観察している。免疫応答の低下に関してはストレス時の成長抑制や疾病の多発から飼育現場では最も望まれている情報であるにもかかわらずその機構が解明されておらず，コーチゾールの果す役割についても報告はみられない。

筋肉組織においては，第Ⅱ章で明らかにしたように，短期間内では筋肉におけるグルコースやアミノ酸の取り込みや利用の抑制が結果的に血糖増加の遠因となっている。魚類でコーチゾールが浸透圧調節に関与するホルモンでもあることはよく知られており，具体的には鰓，腎臓，消化管でナトリウムの吸収，排出に関与していることについての報告は多い（平野1976)。これらは血液中の電解質量の変動に関係してくるものと考えられる。

肝臓においてコーチゾールは第Ⅱ章で考察したように長期的には乳酸，アミノ酸からの糖新生を促進し，高血糖を継続させる。

コーチゾールのこれらの作用は血糖増加，ヘマトクリット値上昇，血清ナトリウム量変動等エピネフリンと同じ作用をもつようにみえるが，第Ⅱ章の実験結果や，コーチゾール作用に関する諸報告をみると反応時間単位が異なっている点に特徴がある。このことは，ストレッサーを受けた最初にはエピネフリン作用による生理学的変化があり，これに引き続いてコーチゾールによる作用が起こりストレス反応が持続されると考えてよいのではないだろうか。

いずれにしても第Ⅰ章で確認したストレス時の高血糖，ヘマトクリット値増加，血清ナトリウム量の変動等は，全身的な反応の総合的反映であることがうかがえる。

4.　環境要因のストレッサー強度と生存限界値

マダイにストレス反応を起こす温度，塩分，酸素等物理的に測定できるストレッサーの強度が，マダイの生存にとってどの程度のものであるかを考えてみたい。

温度耐性は順応温度と到達温度の組み合わせによって決ることはよく知られている。マダイでは Woo and Fung (1980) が温度耐性実験を行い，そのダイヤグラムを報告した。魚を急速に順

応温度から設定温度に移した時の，48時間 LT_{50} を算出したものである。9℃，14℃，20℃，28℃に順応させた時の高温部 LT_{50} はそれぞれ25℃，27.2℃，30.5℃，31.6℃であったとし低温部 LT_{50} は6.5，7.5，11.5，15.5℃であるとした。絶対致死水温は32℃，5.5℃であった。第Ⅰ章第2節の実験では Table 1 にみられるように順応温度は17℃～24.5℃で Woo and Fung (1980) のダイヤグラムのちょうど中心部分の面積を占めることになり，到達温度は，温度上昇時も，温度下降時も実験Ⅰの場合を除いて，この "Tolerance polygon" をわずかにはみ出した部分にある。実験Ⅰの条件だけはこの範囲内の境界に比較的近い位置にあり，この場合にはどの時間帯の血液性状もストレス反応を示していない。ストレス反応を起こしている実験区の温度差は7.4℃以上であった。これらのことは実験的に与えた条件でストレス反応を起こすには温度変化の3要素（温度変化速度，温度差，到達温度）のうち到達温度が有効に働いているものと考えられた。

マダイの塩分耐性に関する実験は断片的なものしかみられない。Woo and Fung (1981) は普通海水から約⅕海水までの稀釈海水中でマダイの10日間飢餓試験を行い，170mOsm/kg（約⅕海水）では3日以内に斃死し，体重や血液性状成分から限界塩分は250mOsm/kg（約¼海水）であると推論した。さらに Woo and Murat (1981) は海水，⅔海水，⅓海水に完全に適応したマダイで高温時の飢餓試験を継続し，⅓海水に適応したマダイの方が生存日数が長かったとしている。萩田 (1972) はマダイ2歳魚を稀釈海水 Cl. 15.64‰，10.78‰，5.35‰，0.17‰にそれぞれ収容し72時間耐性をみて Cl. 5.35‰でも外観上異常は認められなかったという。稚仔魚期のマダイの実験では比重1.025 (Sal. 33.7‰) から1.010 (Sal. 14.13‰) の間であればその変化が大きくない時は斃死は全く認められなかったとされ（梶山・西岡1930），Apostolopoulos (1976) は27.03‰から34.80‰ (Sal.) であれば正常なフ化率が得られたが，19.02‰以下では正常な温度範囲でもフ化率は悪かったという。今回の実験の到達塩分は実験Ⅰ，Ⅱ，Ⅴ，Ⅵで諸報告の実験範囲を越えており，何らかの悪影響が考えられる数値である。ただし，Woo and Fung (1981) のいう限界塩分（¼海水）に近いところの範囲内で，実験Ⅲと実験Ⅳのように到達温度が似通っていても，実験Ⅲではストレス反応が認められていないことは，到達塩分と同時に塩分変化速度が本研究で対象とした種類のストレス反応を起こす要因となっていると考えられる。

酸素分圧のマダイに対する限界値は古く梶山 (1933) が1 ml/l 前後であることを示している。沼田(1975)はマダイ稚魚を用いて横転魚出現時までの酸素消費を調べ，0.74ml/l から1.64ml/l の値を得ている。これらの数値と今回の実験で用いた到達酸素量を比べると，条件の厳しい実験Ⅰ，Ⅱが0.91ml/l，1.31ml/l でこの限界値に近い値を示しているが，実験Ⅲ，Ⅳでは，これからかなりはずれている。それにもかかわらず，どの実験区でもストレス反応を起こす時点が認められている。

このようにストレス反応を起こしている条件と，既往のデータから拾った環境要因の生存限界値との比較をみると，ストレッサーの種類によって正常から死に至る生理学的距離におけるストレス反応の起る位置が大きく異なることがわかる。すなわち，温度，塩分がストレッサーとなる時の位置は致死条件に近いところにあるのに比べて，酸素分圧がストレッサーとなる時は，正常に近い方の位置にある。Table 36 に示したストレッサーをみると，取り扱い，輸送，麻酔，塩

素等は何らかのかたちで組織内酸素低下を起こさせる条件を含んでおり，これらは典型的なストレス反応を起こしている。この他に強制運動や電気ショックでは，血液や筋肉中の乳酸増加から明らかなように，組織の嫌気的代謝を起こしているし，重金属では銅イオンの場合には，これが鰓組織に損傷を与え，そのために酸素欠乏を来たしている可能性が考えられる。これらのことはどこかで組織の酸素欠乏を来たすような条件を含むストレッサーは本研究で扱ったようなストレス反応を起し易いと考えてよいであろう。

本論文では比較的短時間内に大きな変化量のストレッサーを受けた時のストレス反応を扱った。産業上，今後，重要になってくるのは Table 36 の最下段にみられる免疫応答や，複合的ストレッサーに対する魚の抵抗性の問題，生物学的ストレス等であろう。これらの問題を扱うには研究手法の開発を含め新しい視点からの発想が必要であろう。本研究がその一助ともなれば幸である。

要　　約

近年，種苗生産技術が発展し，マダイは完全養殖魚として広く生産されるようになった。マダイの生産過程で受ける種々なストレスは疾病，成長抑制，事故による大量斃死などを通して生産を低下させることにつながり生物学的，非生物学的環境に対するマダイの適応性（ストレス反応）の解明は単に魚類生理学的観点からのみではなく生産管理技術向上のためにも必要とされている。本研究では種々なストレス時のマダイのストレス反応を血液学的性状の変化として把握し，それらの結果よりストレス反応の状態の程度の分類を試みた。また，ストレス反応の機構を知るためストレス時の物質代謝がホルモンによって どのように制御されるかを 遊離組織標本を用いた in vitro 実験系によって明らかにしようとした。

(1)ストレッサーとして飼育水の温度変化刺激を与えた時のマダイの血液性状の変動を測定した。

急激な温度上昇刺激を受けた魚はヘマトクリット値，ヘモグロビン量，血清コーチゾール量，血清グルコース量の増加を示した。急激な温度低下刺激はヘマトクリット値低下とヘモグロビン量の減少，血清コーチゾール量，血清グルコース量の増加をひき起した。温度変化刺激を受けた魚のストレス状態を分類するために，採血時間毎の魚類のヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量の平均値を用いてユークリッド距離を算出しクラスター分析を行った。その結果全体の血液性状はストレスを与えていない時の状態（対照相）前ストレス状態（前反応相）ストレス状態（反応相）疲弊状態（疲弊相）の4群に分類することができた。前反応相では血清ナトリウム量がわずかに低下し，反応相では血清グルコース量とヘマトクリット値の増加が顕著であった。被弊相では血清ナトリウム量の著しい増加が特徴的であった。

(2)ストレッサーとして塩分変化刺激を与えた時のマダイの血液性状の変動を調べた。

急激な塩分上昇刺激に対して，血清グルコース量，血清コーチゾール量，ナトリウム量，クロライド量の上昇が認められ，急激な塩分低下刺激に対しては，高血糖，コーチゾール量増加，高ヘマトクリット値，血清ナトリウム量，クロライド量の減少が認められた。

これら血液性状の変動の在り方から，海産魚のストレス状態の分類をクラスター分析によって試み，対照相，反応相，疲弊相が分類された。反応相ではグルコース値上昇が顕著で疲弊相では，ナトリウム量が周囲環境水に大きく影響を受けている状態が示された。

(3)飼育水の溶存酸素量を減少させた時のマダイの血液性状を測定した。急性，亜急性の溶存酸素量減少はヘマトクリット値，ヘモグロビン量の増加と著しい高血糖，血清コーチゾール量の増加をひき起こした。4時間で1.72ml/l，1.92ml/lの溶存酸素量減少の時のマダイではわずかに血糖値の増加が認められただけであった。ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量を用いて行なったクラスター分析では，酸素量低下時のストレス状態は3群に分別することができた。反応相では高血糖と高ヘマトクリット値が特徴的であり，また3変数の値が著しく低い一群が分離された。

(4)“取り扱い”や“麻酔”などの通常の魚取り扱い操作がマダイの血液性状に与える影響を知るために，緩やかな“取り扱い”（ネットで魚を持ち上げて一分間空中に放置），酷い“取り扱い”（魚を取り上げ麻酔をし胃中にカテーテルで餌料を挿入する），MS222（50ppm，100ppm）による麻酔の実験を行ない，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，血清グルコース量，ナトリウム量，塩素量，カリウム量等を測定した。

緩やかな“取り扱い”直後の血液性状では，カリウム量の有意な低下がみられたものの他の成分には変化はみられなかった。酷い“取り扱い”の場合には，取り扱い直後から血糖の増加，血清カリウム量の増加等が認められた。

MS222による麻酔では2～3分程度で魚が横転する濃度100ppmの時には血液性状には特に変化はみられないが，15分以上かかる麻酔（50ppm）では一時的なヘモグロビン量の減少，血糖値の増加，血清ナトリウム量の増加等が認められた。

これらマダイで得られた結果と他の魚種で得られている血液性状変化に関する知見から，“取り扱い”麻酔時のストレス反応の特徴を論じた。

(5)マダイ輸送時にどの程度のストレス反応が起っているかを知るために，船舶活魚倉輸送と，トラックコンテナ輸送を行なった。船舶輸送の場合には，1×1×1mの活魚倉に魚を収容し18.5km/hで運行し，海水は船底からの流入流出にまかせた状態で行ない，コンテナ輸送の場合には，大型厚手ビニール袋に20lの海水を入れ，これに酸素ガスを30秒間吹き込み，その後密閉して段ボール箱に収容しトラックに積み込み輸送した。輸送中，輸送後の適当な時間に魚を取り上げ，キュビエ氏管より採血し，ヘマトクリット値を測定し，分離した血清についてグルコースとナトリウム量を測定した。

船舶輸送の際，輸送直前に魚を活魚倉に収容した場合には顕著な血糖値の上昇が認められ，また，ヘマトクリット値，血清ナトリウム量の増加が認められる場合もあった。しかし，24時間前に魚を収容しておくと顕著な血糖値の上昇は認められなかった。このことは，“取り扱い”の影響が極めて大きいことを意味している。

コンテナ輸送の場合には，収容時間の如何を問わず，顕著な血糖増加が認められ，ヘマトクリット値は高溶存酸素の影響による低下が認められた。

魚の輸送時に，ストレス反応が起っていることは明らかである。その反応の起り方は実験毎に異なり，輸送のような複合的なストレッサーの影響に対する反応は必ずしも一定でないと判断された。

(6)瀬戸内海における天然マダイの血液性状を調べた。釣り上げた後10分以内に船上で採血し，ヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量，血清カリウム量等を測定した。ヘマトクリット値は34.8±4.87%，（平均値±標準偏差，n＝31）血清グルコース量は63.5±25.14 mg/dl，n＝47)，血清ナトリウム量は181.7±20.00mEq（n＝71）であった。血清ナトリウム量は季節により大きな変動を示した。

(7)ストレッサーの強度の明らかな温度変化，塩分変化，溶存酸素量低下時のマダイの血液性状を基にマダイがストレス状態にあるか否かを判断するための判別函数分析を行なった。それぞれの実験結果より対照相，反応相と判断されたクラスターに含まれる各個体の10×(ヘマトクリット値)，100×log（血清グルコース量)，血清ナトリウム量の3変数を用いてそれぞれのグループを定義した。農林水産計算センターの多変量解析プログラムによって算出した判別函数式は

$Z = 19.268 - 0.004X_1 - 0.029X_2 - 0.027X_3$

Z ： それぞれのグループからの距離，X_1 ： 10×(ヘマトクリット値)

X_2 ： 100×log(血清グルコース量)，　X_3 ： 血清ナトリウム量

であった。

取り扱い，MS222 による麻酔，輸送，釣り上げ時のマダイ個体のヘマトクリット値，血清グルコース量，血清ナトリウム量の測定値を判別函数式に適用しストレス状態にあるか否かの判別を行った。

(8)ストレス時のエネルギー代謝を明らかにするために主として^{14}C を用いたトレーサー実験を行なった。組織標本は肝臓，筋肉組織，腹腔内脂肪組織を用いた。肝臓組織はスタディ・リグススライサーを用い薄切片とし，筋肉組織は胸鰭骨上体表側筋肉を剝離し，腹腔内脂肪組織は20㎎程度の細切片として in vitro 実験に供した。

(9)遊離組織標本についてクレブス氏重炭酸緩衝液中の U-^{14}C-グルコースの代謝に与える飢餓の影響を研究した。

初夏，2ヶ月間の絶食は肥満度，肝体重比の著しい減少を起した。in vitro 実験では標識グルコースは効率的に利用され，特に飢餓魚では肝臓や腹腔内脂肪組織では湿重量あたりの炭酸ガス生成は著しく増大した。しかし，組織への取込みやグリコーゲンへの転換には有意差は認められなかった。グルコースの炭酸ガス生成としての利用増大や，貯臓物質の減少は，飢餓時の血液学的性状にみられるストレス反応の様相を正常時とは異なったものにするであろうと推測された。

(10)マダイのスライスした肝臓組織標本，胸鰭骨上剝離筋肉および腹腔内脂肪組織細片を用いたin vitro 実験で，各種ホルモンが肝臓組織からのグルコース遊離，及び肝臓，筋肉，脂肪組織からの脂肪酸遊離に与える影響を調べた。

ホルモンを添加しない同一魚体の対照区との比較で，エピネフリンとグルカゴンは肝臓からのグルコース遊離を促進し，コーチゾールとインスリンは肝臓からのグルコース遊離を抑制した。

クレブス燐酸緩衝液中で各種組織の振盪培養を3時間行なった後，組織と緩衝液を Dole の液で振盪抽出し，Trout の方法により脂肪酸の定量を行なった。エピネフリン，グルカゴン，インスリンは，どの組織についても特定の効果を示さなかった。コーチゾールには肝臓の遊離脂肪酸を増加させる傾向が認められたがその量は大きくなく，今後の検討が必要と考えられた。

(11)遊離組織標本におけるグルコース利用に与えるエピネフリンの影響を U-^{14}C-グルコースにより調べた。2回の実験を行なった。クレブス氏重炭酸緩衝液中の遊離組織標本は基質グルコースを組織に取り込み，炭酸ガス生成やグリコーゲン合成のために利用し，特に胸鰭筋肉に於けるグルコース利用は大きかった。

エピネフリンは2回の実験で胸鰭筋肉におけるグリコーゲン合成を抑制し，1つの実験では肝臓におけるグリコーゲン合成の抑制と腹空内脂肪組織における炭酸ガス生成の増加を起した。

(12)遊離組織標本における U-^{14}C-グルコース，U-^{14}C-乳酸，U-^{14}C-グリシンの利用に与えるコーチゾールの影響を in vitro 実験系で論べた。これら基質の代謝の様相は組織毎に異なった。グルコースは，肝臓と胸鰭筋肉で主に呼吸（炭酸ガス生成）とグリコーゲン合成に多く利用され，乳酸は肝臓では呼吸と脂肪合成と糖新生に脂肪組織では脂肪合成に利用され，グリコーゲン合成に利用される割合は少なかった。グリシンは，肝臓では呼吸基質とグルコース生成に利用され，グリコーゲンや脂質に利用される割合は少なく，胸鰭筋肉や腹腔内脂肪組織では呼吸基質，グリコーゲン，脂肪としての利用は少なかった。

コーチゾールを実験系に添加すると，グルコースの胸鰭筋肉取り込み抑制と腹腔内脂肪組織におけるグルコースからの脂肪合成の促進がみられた。また，肝臓においてグリシンからのグリコーゲン生成抑制と胸鰭筋肉におけるグリシン取り込み抑制がみられた。調べた条件範囲内では乳酸の代謝に関してコーチゾールの影響は認められなかった。

(13)ストレス時に血液中に増加するエピネフリン，コーチゾールの物質代謝に与える影響とストレス時の高血糖の機構を考察した。in vitro 実験の結果から少なくともストレス時初期の血糖上昇は，肝臓や筋肉におけるグリコーゲン分解によるグルコース生成，末稍組織におけるグルコース利用の抑制，肝臓における乳酸やアミノ酸等からの糖新生等の複合的結果であると考えられた。特に乳酸は，ストレス状態で起り易い組織窒息の結果産生され，肝臓では組織内に保持されることなく呼吸基質，脂肪，糖として代謝されるという特性から糖新生基質として，重要であると考えられた。

反応の大きさや確実さからストレス時の初期の代謝変化を起すホルモンは主にエピネフリンであると考えられた。

謝　　辞

本研究を行うにあたり，京都大学農学部教授，池田静徳博士，ならびに東京水産大学増殖学科教授，尾崎久雄博士に，終始，御指導と御鞭達を賜わり，また，本論文の御校閲をいただきました。両博士に謹んで御礼申し上げます。

本研究を開始し継続する機会を与えられた元南西海区水産研究所，藤谷超博士（現日本海区水産研究所所長），元南西海区水産研究所，阪口清次博士（現養殖研究所病理部部長）に感謝いたします。養殖研究所病理部病理研究室室長　乾靖夫博士には，内容の一部について良い示唆を与えられたことを感謝いたします。また，多変量解析を行うにあたって，デスクトップコンピューター YHP30，YHP45 でのクラスター分析，判別函数分析のプログラムの使用を許された南西海区水産研究所，石岡清英技官，本実験遂行にあたり魚の飼育，実験補助をお願いした桧原恵，山手美代子両氏に深謝いたします。

文　　献

Abrahamson, T., 1979: Phenylethanolamine-N-methyl transferase (PNMT) activity and catecholamine storage and release from chromaffin tissue of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. Comp. Biochem. Physiol., **64C**, 169–172.

Aldrin, J. F., J. L. Messager et M. Mevel, 1979: Essai sur le stress de transport chez le saumon coho juvenile (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture, **17**, 279–289.

Allanson, B. R., A. Bok and N. I. van Wyk, 1971: The influence of exposure to low temperature on *Tilapia mossambica* Peters (cichlidae) II. Changes in serum osmolarity, sodium and chloride ion concentrations. J. Fish Biol., **3**, 181–185.

Apostoropoulos, J. S., 1976: Combined effect of temperature and salinity of the hatching rate, hatching time and total body length of the newly hatched larvae of the Japanese red sea bream, *Pagrus major*. La Mer, **14**, 23–30.

Arillo, A., B. Uva and M. Vallarino, 1981: In activity in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) and effects of environmental ammonia. Comp. Biochem. Physiol., **68A**, 307–311.

粟倉輝彦，1964：ニジマスの海水に対する抵抗性について（Ⅱ）．魚と卵，**15**，8–13.

馬場茂明・奥田　清編，1973：医化学実験法講座，臨床化学Ⅱ，337—338．中山書店，東京.

Ball, J. N. and A. M. Slicher, 1962: Influence of hypophysectomy and of an adrenocortical inhibitor (SU-4885) on the stress response of the white blood cells in the teleost fish, *Mollienesia latipinna* Le Sueur. Nature, **196**, 1331–1332.

Ball, J. N., C. Jones, M. E. Forster, G. Hargreaves, E. F. Hawkins and K. P. Milne, 1971: Measurement of plasma cortisol levels in the eel, *Anguilla anguilla* in relation to osmotic adjustments. J. Endocr., **50**, 75–96.

Barton, B. A., R. E. Peter and C. R. Paulencu, 1980: Plasma cortisol levels of fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at rest and subjected to handling, confinement, transport and stocking. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **37**, 850–811.

Bath, R. N. and F. B. Eddy, 1979: Salt and water balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) rapidly transferred from freshwater to sea water. J. Exp. Biol., **83**, 193–202.

Beggs, G. L., G. F. Holeton and E. J. Crossman, 1980: Some physiological consequences of angling stress in muskellungs, *Esox masquinongy* Mitchill. J. Fish Biol., **17**, 649–659.

Bentley, P. J. and B. K. Follett, 1965: The effects of hormones on the carbohydrate metabolism of the lamprey, *Lampetra fluviatilis*. J. Endocr., **31**, 127–137.

Birnbaum, M. J., J. Schultz and J. N. Fain, 1976: Hormone-stimulated glycogenolysis in isolated goldfish hepatocytes. Am. J. Physiol., **231**, 191–197.

Block, R. M., 1977: Physiological responses of estuarine organisms to chlorine. Chesapeak Science, **18**(1), 158–160.

Bogdan, E. and D. Waluga, 1980: The effect of transport on the quality of eel stocking material. Aquaculture, **20**, 139–146.

Bouck, G. R. and R. C. Ball, 1966: Influence of capture methods on blood characteristics and mortality in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., **95**, 170–176.

Bouck, G. R., M. A. Cairns and A. R. Christian, 1978: Effect of capture stress on plasma enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., **35**, 1485–1488.

Buckley, J. A., 1976: Heinz body hemolytic anemia in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated waste water. J. Fish. Res. Board Can., **34**, 215–224.

Burton, D. T. and A. M. Spehar, 1971: A re-evaluation of the anaerobic endproducts of fresh-water fish exposed to environmental hypoxia. Comp. Biochem. Physiol., **40A**, 945–954.

Burton, D. T., 1979: Ventilation frequency compensation responses of three eurythermal estuarine fish exposed to moderate temperature increases. J. Fish. Biol., **15**, 589–600.

Burton, D. T. and A. G. Heath, 1980: Ambient oxygen tension (Po_2) and transition to anaerobic metabolism in three species of fresh water fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **37**, 1216–1224.

Burton, C. B. and S. A. Murray, 1979: Effects of density on goldfish blood-I. Haematology. Comp. Biochem. Physiol., **62A**, 555–558.

Butler, D. G., 1968: Hormonal control of gluconeogenesis in the North American eel (*Anguilla rostrata*). Gen. Comp. Endocr., **10**, 85–91.

Cameron, J. N., 1970: The influence of environmental variables on the hematology of pinfish (*Lagodon rhomboides*) and striped mullet (*Mugil cephalus*). Comp. Biochem. Physiol., **32**, 175–192.

Carneiro, N. M. and A. D. Amaral, 1983: Effects of insulin and glucagon on plasma glucose levels and glycogen content in organs of the fresh water teleost, *Pimelodus maculatus*. Gen. Comp. Endocr., **49**, 115–121.

Casillas, E. and L. S. Smith, 1977: Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Biol., **10**, 481–491.

Catlett, R. H. and D. R. Millich, 1976: Intracellular and extracellular osmoregulation of temperature acclimated goldfish, *Carassius auratus* L. Comp. Biochem. Physiol., **55A**, 261–269.

Chan, D. K. O., I. C. Jones, I. W. Henderson and J. C. Rankin, 1967: Studies on the experimental alteration of water and electrolyte composition of the eel (*Anguilla anguilla* L.). J. Endocr., **37**, 297–317.

Chan, D. K. O. and N. Y. S. Woo, 1978a: Effect of glucagon on the metabolism of the eel, *Anguilla japonica*. Gen. Comp. Endocr., **35**, 216–225.

Chan, D. K. O. and N. Y. S. Woo, 1978b: Effect of cortisol on the metabolism of the eel, *Anguilla japonica*. Gen. Comp. Endocr., **35**, 205–215.

Chavin, W. and J. E. Young, 1970: Factors in the determination of normal serum glucose levels of goldfish, *Carassius auratus* L. Comp. Biochem. Physiol., **33**, 629–653.

Dando, P. R., 1969: Lactate metabolism in fish. J. mar. biol. Ass. U. K., **49**, 209–223.

Dave, G., M.-L. Johansson-Sjöbeck, A. Larsson, K. Lewander and U. Lidman, 1979: Effects of cortisol on the fatty acid composition of the total blood plasma lipids in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Comp. Biochem. Physiol., **64A**, 37–40.

Davis, K. B. and B. A. Simco, 1976: Salinity effects on plasma electrolytes of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Fish. Res. Board Can., **33**, 741–746.

出口吉昭, 1982: Ⅰ. 輸送中の生理, 2. 排泄, 水産学シリーズ**39**, 活魚輸送, 日本水産学会編, pps 137, 恒星社厚生閣, 東京.

Demaël-Suard, A., 1972: Influence d'une anoxie brutale sur la regulation endocrinienne du metabolisme glucidique d'un poisson Cyprinide, *Tinca vulgaris* L. Societe de Biologie de Lyon. **24,** 394–398.

Demaël, A. et D. Garin, 1974: Etude in vitro du metabolisme hydrocarbone du poisson au cours du choc thermique. Cahiers du Laboratoire de Montereau. (1), 27–32.

Demeäl-Suard, A., D. Garin, G. Brichon, M. Mure et G. Peres, 1974: Neoglycogenese a partir de la glycine ^{14}C chez la tanche (*Tinca vulgaris* L.) au cours de l'asphyxie. Comp. Biochem. Physiol., **47A,** 1023–1033.

Demaël, A. et D. Garin, 1978: Effets d'un choc thermique de 10C° (15-25C°) sur certains parametres metaboliques de la tanche adaptee ades eaux diversement oxygenees. Cahiers du Laboratoire de Montereau, (7), 15–25.

Deroos, R. and C. C. Deroos, 1978: Elevation of plasma glucose levels by catecholamines in elasmobranch fish. Gen. Comp. Endocr., **34,** 447–452.

Donaldson, E. M. and H. M. Dye, 1975: Corticosteroid concentrations in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) exposed to low concentrations of copper. J. Fish. Res. Board Can., **32,** 533–589.

Donaldson, E. M., 1981: The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. Stress and Fish (edited by Pickering), 11–47., Academic Press, London, New-York, Toronto, Sydney, San-Francisco.

Driedzic, W. R. and P. W. Hochachka, 1975: The unanswered question of high anaerobic capabilities of carp white muscle. Can. J. Zool., **53,** 706–712.

Driedzic, W. R. and P. W. Hochachka, 1976: Control of energy metabolism in fish white muscle. Am. J. Physiol., **230,** 579–582.

Eddy, F. B. and R. N. Bath, 1979: Ionic regulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) adapted to fresh water and dilute sea water. J. Exp. Biol., **83,** 181–192.

Ejike, C. and C. B. Schreck, 1980: Stress and social hierarchy rank in coho salmon. Trans. Am. Fish. Soc., **109,** 423–426.

Epple, A., 1969: The endocrine pancreas. Fish Physiology (edited by Hoar and Randall), Vol. 2, 275–319.

Epple, A. and T. L. Lewis, 1977: Metabolic effects of pancreatectomy and hypophysectomy in the yellow American eel, *Anguilla rostrata* LeSuer. Gen. Comp. Endocr., **32,** 294–315.

Erickson, J. G., 1967: Social hierarchy, territoriality and stress reactions in sunfish. Physiol. Zool., **40,** 40–48.

Fagerlund, U. H. M., 1967: Plasma cortisol concentration in relation to stress in adult sockeye salmon during the freshwater stage of their life cycle. Gen. Comp. Endocr., **8,** 197–207.

Fagerlund, U. H. M., J. R. McBride and E. T. Stone, 1981: Stress-related effects of hatchery rearing density on coho salmon. Trans. Am. Fish. Soc., **110,** 644–649.

Fain, J. N. and M. P. Czech, 1975: Glucocorticoid effects on lipid mobilization and adipose tissue metabolism. Handbook of Physiology, Section 7, Endocrinology, Vol. VI. Adrenal gland, 169–178, American Physiological Society, Washington.

Farghaly, A. M., A. A. Ezzat and M. B. Shabana, 1973: Effect of temperature and salinity changes on the blood characteristics of *Tilapia zilli* G. in Egyptian littoral lakes. Comp. Biochem. Physiol., **46A,** 183–193.

Farkas, T., 1967: The effect of catecholamines and adrenocorticotropnic hormone on blood and adipose tissue FFA levels in the fish, *Cyprinus carpio* L. Progr. Biochem. Pharmacol., **3,** 314–319.

Ferreira, J. T., G. L. Smit and H. J. Schoonbee, 1981: Haematological evaluation of the anaesthetic benzocaine hydrochloride in the fresh water fish, *Cyprinus carpio* L. J. Fish Biol., **18,** 291–297.

Fletcher, G. L., 1975: The effects of capture "stress" and storage of whole blood on the red blood cells, plasma proteins, glucose and electrolytes of the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*).

Can. J. Zool., **53**, 197–206.

FOLCH, J., M. LEES and G. H. S. STANLEY, 1957: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. J. Biol. Chem., **226**, 497–500.

FORREST, J. N. JR., W. C. MACKAY, B. GALLAGHER and F. H. EPSTEIN, 1973: Plasma cortisol response to saltwater adaptation in the American eel, *Auguilla rostrata*. Am. J. Physiol., **224**, 714–717.

FRYER, J. N., 1975: Stress and adrenocorticosteroid dynamics in the goldfish, *Carassius auratus*. Can. J. Zool., **53**, 1012–1020.

FRYER, J. N. and R. E. PETER, 1977a: Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish I. Corticotrophin-releasing factor activity in teleost brain tissue extracts. Gen. Comp. Endocr., **33**, 196–201.

FRYER, J. N. and R. E. PETER, 1977b: Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish II. Hypothalamic lesioning studies. Gen. Comp. Endocr., **33**, 202–214.

FRYER, J. N. and R. E. PETER, 1977c: Hypothalamic control of ACTH secretion in goldfish III. Hypothalamic cortisol implant studies. Gen. Comp. Endocr., **33**, 215–225.

藤谷　超・石岡宏子・福原　修, 1972：浅海域における増養殖漁場の開発に関する総合研究（備後灘周辺実験漁場）, 1. クルマエビ人工種苗の生理生態に関する研究, 昭和46年度別枠研究成果, 10–15.

藤谷　起・塚原宏子, 1969：養魚餌料の研究—第Ⅷ報飢餓魚に現われた症状. 南西海区水産研究所研究報告, (1), 63–69.

古市政幸・四反田勝久・米　康夫, 1971a：マダイの栄養要求に関する研究—Ⅳ. 各種炭水化物の栄養価. Rep. Fish. Lab. Kyushu Univ., (1), 75–81.

古市政幸・四反田勝久・米　康夫, 1971b：マダイの栄養要求に関する研究—Ⅴ. 炭水化物の適正量. Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ., (1), 91–100.

古市政幸・米　康夫, 1971c：マダイの栄養要求に関する研究—Ⅵ. グルコースおよびインシュリン負荷試験による糖利用能の検討, Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ., (1), 101–106.

伏見　徹, 1975：Ⅱ. 飼育条件と発育, 4. 餌料, 水産学シリーズ8, 稚魚の摂餌と発育, 日本水産学会編, 67–83, 恒星社厚生閣, 東京.

GIRARD, J. P. and P. PAYAN, 1976: Effect of epinephrine on vascular space of gills and head of rainbow trout. Am. J. Physiol, **230**(6), 1555–1560.

GIRARD, J. P. and P. PAYAN, 1980: Ion exchanges through respiratory and chloride cells in frashwater- and seawater-adapted teleosteans. Am. J. Physiol., **238**, R260–R268.

GORDON, M. S., 1959: Ionic regulation in the brown trout (*Salmo trutta* L.). J. Exp. Biol., **36**, 227–252.

GRONOW, G., 1974: Nukleinsäure und Substratgehalte in der dorsalen Rumpfmuskulatur von Teleosteern während eines "biologischen Stress". Mar. Biol., **24**, 313–327.

GUPTA, O. P. and W. HANKE, 1982: The effects of osmotic stressors on the euryhaline tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). Comp. Biochem. Physiol., **73A**(3), 405–411.

萩田健二, 1972：マダイ養殖の環境試験. 昭和47年度三重県尾鷲水産試験場事業報告, 84–91.

HALL, F. G., I. E. CRAY and S. LEPKOVSKY, 1926: The influence of asphyxiation on the blood constituents of marine fishes. J. Biol. Chem., **67**, 549–554.

HANE, S., O. H. ROBERTSON, B. C. WEXLER and M. A. KRUPP, 1966: Adrenocortical response to stress and ACTH in Pacific salmon and steelhead trout at successive stages in the sexual cycle. Endocrinology, **78**, 791–800.

HARDISTY, M. W., P. R. ZELNIK and V. C. WRIGHT, 1976: The effects of hypoxia on blood sugar levels and on the endocrine pancreas, interrenal and chromaffin tissues of the lamprey, *Lampetra fluviatilis* (L.). Gen. comp. Endocr., **28**, 184–204.

HARMAN, B. J. and D. L. JOHNSON, 1980: Physiological responses of Lake Erie freshwater drum to capture by commercial shore seine. Trans. Am. Fish. Soc., **109**, 544–551.

橋本　進，1982：サケ親魚の活魚輸送時に必要な酸素放出量について．北海道さけ・ますふ化場研究報告，(36)，71–73.

Hattingh, J. and A. J. J. Van Pletzen, 1974: The influence of capture and transportation on some blood parameters of fresh water fish. Comp. Biochem. Physiol., **49A,** 607–609.

Hattingh, J., 1976: Blood sugar as an indicator of stress in the freshwater fish, *Labeo capensis* (Smith). J. Fish Biol., **10,** 191–195.

Hattingh, J., 1977: The effect of tricane methanesulphonate (MS222) on the microhaematocrit of fish blood. J. Fish Biol., **10,** 453–455.

林孝市郎，1977：14. 活魚輸送．魚類生理学（川本信之編），306–317，恒星社厚生閣，東京.

Hayashi, K., N. W. Green and E. C. Black, 1964: Carbohydrate metabolism during transportation of live rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Rep. Fac. Fish., Pref. Univ. Mie, **5**(1), 51–125.

Hayashi, S. and Z. Ooshiro, 1975a: Glycogenolysis and gluconeogenesis by eel liver slices. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., **24,** 119–122.

Hayashi, S. and Z. Ooshiro, 1975b: Gluconeogenesis and glycolysis in isolated perfused liver of the eel. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41,** 201–208.

Hayashi, S. and Z. Ooshiro, 1975c: Incorporation of ^{14}C-lactate into glucose by perfused eel liver. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**(7), 791–796.

Hayashi, S. and Z. Ooshiro, 1977: Gluconeogenesis in perfused eel liver—Effect of starvation, amino-oxyacetate, D-malate and hormones. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., **26,** 89–95.

Hayashi, S. and Z. Ooshiro, 1979: Gluconeogenesis in isolated liver cells of the eel, *Anguilla japonica*. J. Comp. Physiol., **132,** 343–350.

Haywood, G. P., 1975: Indications of sodium, chloride and water exchange across the gills of the striped dogfish, *Poroderma africanum*. Mar. Biol., **29,** 267–276.

Heath, A. G. and G. M. Hughes, 1973: Cardiovascular and respiratory changes during heat stress in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Exp. Biol., **59,** 323–338.

Hegab, S. A. and W. Hanke, 1982: Electrolyte changes and volume regulatory processes in the carp (*Cyprinus carpio*) during osmotic stress. Comp. Biochem. Physiol., **71A,** 157–164.

Heinicke, E. A. and A. H. Houston, 1965: A note on water balance in the goldfish, *Carassius auratus* L., during lethal heat shock. Can. J. Zool., **43,** 847–852.

Henderson, I. W., V. Jotisankasa, W. Mosley and M. Oguri, 1976: Endocrine and environmental influences upon plasma cortisol concentrations and plasma renin activity of the eel, *Anguilla anguilla* L. J. Endocr., **70,** 81–95.

Hickman, C. P. Jr., R. A. McNabb, J. S. Nelson, E. D. Van Breemen and D. Comfort, 1964: Effect of cold acclimation on electrolyte distribution in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Zool., **42,** 577–597.

Hill, C. W. and P. O. Fromm, 1968: Response of interrenal gland of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to stress. Gen. Comp. Endocr., **11,** 69–77.

Hirano, T., 1969: Effects of hypophysectomy and salinity change on plasma cortisol concentration in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Endocrinol. Japon., **16**(5), 557–560.

Hirano, T. and S. Utida, 1971: Plasma cortisol concentration and rate of intestinal water absorption in the eel, *Anguilla japonica*. Endocrinol. Japon., **18**(1), 47–52.

平野哲也，1976：プロラクチン作用の本質についての比較内分泌学的アプローチ．水・電解質代謝を中心として．ホルモンの生物科学．1.比較内分泌学序説，（日本内分泌学会編），157–179，東京大学出版会，東京.

広島県水産試験場・山口内海水産試験場・愛媛県水産試験場・高知県水産試験場・大分県水産試験場・宮崎県水産試験場，1982：昭和56年度回遊性魚類共同放流実験調査事業，瀬戸内海西部海域総合報告書，広島県，1–34.

Holbert, P. W., E. J. Boland and K. R. Olson, 1979: The effect of epinephrine and acetylcholine on the distribution of red cells within the gills of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Exp. Biol., **79**, 135–146.

Holeton, G. F. and D. J. Randall, 1967: The effect of hypoxia upon the partial pressure of gasses in the blood and water afferent and efferent to the gills of rainbow trout. J. Exp. Biol., **46**, 317–327.

Holmgren, S. and S. Nilsson, 1982: Neuropharmacology of adrenergic neurons in teleost fish. Comp. Biochem. Physiol., **72C**, 289–302.

細谷憲政・町谷肇彦, 1971：C．組織をもちいる実験法1．スライスの作製方法と肝腎をもちいた実験．医化学実験法講座第2巻A《代謝および酵素》, 243–250, 中山書店, 東京.

Houston, A. H., 1962: Some observations on water balance in the goldfish, *Carassius auratus* L., during cold death. Can. J. Zool., **40**, 1169–1174.

Houston, A. H. and J. A. Madden, 1968: Environmental temperature and plasma electrolyte regulation in the carp, *Cyprinus carpio*. Nature, **217**, 969–970.

Houston, A. H. and M. A. DeWilde, 1969: Environmental temperature and the body fluid system of the freshwater teleost III. Haematology and blood volume of thermally acclimated brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Comp. Biochem. Physiol., **28**, 877–885.

Houston, A. H., J. A. Madden, R. J. Woods and H. M. Miles, 1971: Some physiological effects of handling and tricaine methanesulphonate anesthetization upon the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. J. Fish. Res. Board Can., **28**, 625–633.

Houston, A. H., C. L. Czerwinski and R. J. Woods, 1973: Cardiovascular-respiratory activity during recovery from anesthesia and surgery in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and carp (*Cyprinus carpio*). J. Fish. Res. Board Can., **30**(11), 1705–1712.

Houston, A. H. and D. Cyr, 1974: Thermoacclimatory variation in the haemoglobin systems of goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Exp. Biol., **61**, 455–461.

Hughes, G. M. and J. L. Roberts, 1970: A study of the effect of temperature changes on the respiratory pumps of the rainbow trout. J. Exp. Biol., **52**, 177–192.

Hunn, J. B., 1969: Chemical composition of rainbow trout urine following acute hypoxic stress. Trans. Am. Fish. Soc., **98**, 20–22.

Idler, D. R. and B. Truscott, 1972: Corticosteroids in fish. Steroids in Nonmammalian Vertebrates (edited by D. R. Idler), 127–252, Academic Press, New York and London.

Iga, T., 1978: The mode of action of potassium ions on the leukophores of the fresh water teleost, *Oryzias latipes*. J. Exp. Zool., **205**, 413–422.

池田静徳, 1977：6．消化酵素．魚類生理, 140—159, 恒星社厚生閣, 東京.

池田静徳, 1979：魚類の糖代謝．蛋白質・核酸・酵素, **24**(3), 292–136.

池田弥生, 1976：養殖ハマチの血液成分に関する診断学的研究．京都大学農学部学位論文, 1–91.

Ince, B. W. and A. Thorpe, 1975: Hormonal and metabolite effects on plasma free fatty acids in the northern pike, *Esox lucius* L. Gen. Comp. Endocr., **27**, 144–152.

Ince, B. W. and A. Thorpe, 1976: The in vivo metabolism of ^{14}C-glucose and ^{14}C-glycine in insulin-treated northern pike (*Esox lucius* L.). Gen. Comp. Endocr., **28**, 481–486.

Ince, B. W. and A. Thorpe, 1977: Plasma insulin and glucose responses to glucagon and catecholamines in the European silver eel (*Anguilla anguilla* L.). Gen. Comp. Endocr., **33**, 453–459.

Inui, Y. and Y. Ohshima, 1966: Effect of starvation on metabolism and chemical composition of eels. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **32**, 492–501.

Inui, Y. and S. Egusa, 1967: Histological changes observed in glass eel liver during starvation. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **33**(3), 181–189.

Inui, Y. and M. Yokote, 1974: Gluconeogenesis in the eel-I. Gluconeogenesis in the fasted eel. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., **24**(1), 33–46.

Inui, Y. and M. Yokote, 1975a: Gluconeogenesis in the eel-III. Effects of mammalian insulin on the carbohydrate metabolism of the eel. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**, 965–972.

Inui, Y. and M. Yokote, 1975b: Gluconeogenesis in the eel-IV. Gluconeogenesis in the hydrocortisone administrated eel. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**, 973–981.

Inui, Y. and M. Yokote, 1975c: Gluconeogenesis in the eel-V. Effects of alloxan and hydrocortisone administraeion on amino acid mobilization in the hepatectomized eel. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**, 1101–1104.

Inui, Y. and M. Yokote, 1977: Effects of glucagon on amino acid metabolism in Japanese eels, *Anguilla japonica*. Gen. comp. Endocr., **33**, 167–173.

Inui, Y. and H. Ishioka, 1983a: Effects of insulin and glucagon on the incorporation of ^{14}C-glycine into the protein of the liver and opercular muscle of the eel in vitro. Gen. Comp. Endocr., **51**, 208–212.

Inui, Y. and H. Ishioka, 1982b: Effects of insulin and glucagon on amino acid transport into the liver and opercular muscle of the eel in vitro. Gen. Comp. Endocr., **51**, 213–218.

井上　進・古市政幸, 1979：活魚輸送中の水ゆれが魚体に及ぼす影響と水ゆれ防止型水槽の試作について. Rep. Fish. Res. Lab., Kyushu Univ., (4), 79–114.

石岡清英・石岡宏子, 1978：コーチゾールラジオイムノアッセイの標準曲線のあてはめに関する検討. 南西海区水産研究所報告, (11), 65–74.

石岡宏子・国行一正, 1979：養殖マダイと天然マダイの形態の比較. (未発表).

石岡宏子・乾　靖夫, 1980：養殖魚における病害の予防に関する研究(8), 臨床検査のための標準値. 農林水産技術会議研究成果, **128**, 74–82.

石岡宏子, 1980a：海産魚のストレス反応に関する研究—Ⅰ. 温度変化によるストレス反応. 日水誌, **46**(5), 523–531.

石岡宏子, 1980b：急激な塩分変化がマダイの血液性状におよぼす影響. 日水誌, **46**(11), 1323–1331.

石岡宏子, 1982：飼育水の酸素分圧低下によるマダイの血液性状変化. 日水誌, **48**(2), 165–170.

石岡宏子, 1983：In vitro 代謝研究のためのマダイの摘出筋肉標本. 日水誌, **49**(10), 1523–1526.

石岡宏子, 1984a：麻酔および取り扱いストレス時の血液性状変化. 南西海区水産研究所報告, (16), 53–62.

石岡宏子, 1984b：輸送時のマダイの血液性状成分の変動. 南西海区水産研究所報告, (16), 63–71.

石岡宏子, 1984c：マダイ摘出組織標本におけるグルコースおよび脂肪酸遊離に与える各種ホルモンの影響. 南西海区水産研究所報告, (16), 73–84.

磯野泰三・中村四郎, 1929：魚介類の水中酸素呼吸について. 水産研究誌, **25**(7), 163–168.

板沢靖男・早川　悟, 1972：海水魚の浸透圧調節に関する一実験. 稀釈海水中におけるマダイの浸透圧調節. 九大農芸学雑誌, **26**, 197–202.

板沢靖男, 1982：Ⅰ. 輸送中の生理, 1. 呼吸. 水産学シリーズ**39**. 活魚輸送, 9–21, 恒星社厚生閣, 東京.

伊藤真次, 1976：8. 副腎皮質ホルモン. 内分泌学, 138–161, 理工学社, 東京.

Jackim, E. and G. LaRoche, 1973: Protein synthesis in *Fundulus heteroclitus* muscle. Comp. Biochem. Physiol., **44A**, 851–866.

Jackson, A. J., 1981: Osmotic regulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) following transfer to sea water. Aquaculture, **24**, 143–151.

Johanson-Sjöbeck, M.-L., G. Dave, A. Larsson, K. Lewander and U. Lidman, 1978: Haematological effects of cortisol in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Comp. Biochem. Physiol., **60A**, 165–168.

Johnston, I. A. and G. Goldspink, 1973: Some effects of prolonged starvation on the metabolism of the red and white myotomal muscles of the plaice, *Pleuronectes platessa*. Mar. Biol., **19**, 348–353.

Johnston, I. A., 1975a: Studies on the swimming musculature of the rainbow trout II. Muscle metabo-

lism during severe hypoxia. J. Fish Biol., **7**, 459–467.

JOHNSTON, I. A., 1975b: Anaerobic metabolism in the carp (*Carassius carassius* L.). Comp. Biochem. Physiol., **51**, 235–241.

JONES, I. C., D. BELLAMY, D. K. O. CHAN, B. K. FOLLETT, I. M. HENDERSON, L. G. PHILLIPS and R. S. SNART, 1972: Biological actions of steroid hormones in nonmammalian vertebrates. Steroids in Nonmammlian vertebrates (edited by Idler), 415–480, Academic Press, New York and London.

JOZUKA, K., 1966: Chloride-excreting and mucus-secreting cells in the gills of the Japanese common eel, *Anguilla japonica*. Annot. Zool. Japon., **39**, 202–210.

JURANI, M., L. MIKULAJ and K. MURGAS, 1972: Phylogenetic aspects of adrenocortical activity during the process of adaptation. Advan. Exp. Med. Biol., **33**, 619–629.

梶山英二, 1928：真鯛フ化及び発育に及ぼす水温及び比重の影響に就て. 動物学雑誌, **40**, 521–522.

梶山英二・西岡丑三, 1930：鯛「ラーバ」飼育完成に就て. 水産研究誌, **25**, 35–40.

梶山英二, 1933：小鯛の酸素消費量及び呼吸停止時に於ける酸素含有量に及ぼす水温, 鹹度及び水素イオン濃度の影響. 日水誌, **2** (1), 8–12.

神谷美江, 1975：魚のえらとイオンの能動輸送—塩類細胞における Na-K ATPase の役割. 化学と生物, **13**, 155–157.

金子徳五郎・竹内昌昭・石井清之助・東　秀雄・菊地貴明, 1966：養魚飼料における脂質の役割に関する研究—Ⅳ. 絶食時のニジマス可食部脂肪酸組成の変化. 日水誌, **33**(1), 56–58.

狩谷貞二, 1950：魚類の赤血球抵抗力について. 第1報, 呼吸困難状態の魚の赤血球抵抗力. 日水誌, **25**, 728–734.

川津浩嗣, 1980：養殖魚における病害の予防に関する研究. 農林水産技術会議事務局研究成果, **128**. 17–20.

KIRK, W. L., 1974: The effects of hypoxia on certain blood and tissue electrolytes of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (RAFINESQUE). Trans. Am. Fish. Soc., **103**(3), 593–600.

北島　力, 1978：マダイの採卵と稚魚の量産に関する研究. 長崎県水産試験場論文集. 第5集, 1–92.

KONAGAYA, T., 1977: Change of body temperature of tuna during hauling operation. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **43**, 1351.

小坂光男, 1981：温度適応. 温熱生理学 (中山昭雄編), 483–488, 理工学社, 東京.

九州・山口ブロック水産試験場マダイ種苗生産研究会, 1977：マダイ種苗生産の技術の現状と問題点. 日本水産資源保護協会, 1–179.

LACOMBE, C. et Y. CREACH, 1974: Influence d'une elevation de temperature sur quelques parametres physiologiques en relation avec le metabolisme azote et hydromineral de la carpe (*Cyprinus c.* L.). Cahiers du Laboratoire de Montereau, (1), 71–84.

LARSSON, A. and K. LEWANDER, 1972: Effects of glucagon administration to eels (*Anguilla anguilla* L.). Comp. Biochem. Physiol., **43A**, 831–836.

LARSSON, A. L., 1973: Metabolic effects of epinephrine and norepinephrine in the eel, *Anguilla anguilla* L. Gen. Comp. Endocr., **20**, 155–167.

LEACH, G. J. and M. H. TAYLOR, 1980: The role of cortisol in stress-induced metabolic changes in *Fundulus heteroclitus*. Gen. Comp. Endocr., **42**, 219–227.

LEACH, G. L. and M. H. TAYLOR, 1982: The effects of cortisol treatment on carbohydrate and protein metabolism in *Fundulus heteroclitus*. Gen. Comp. Endocr., **48**, 76–83.

LEIBSON, L. and E. M. PLISETSKAYA, 1968: Effect of insulin on blood sugar level and glycogen content in organs of some cyclostomes and fish. Gen. Comp. Endocr., **11**, 381–392.

LEIVESTAD, H., H. ANDERSON and P. F. SCHOLANDER, 1957: Physiological response to air exposure in codfish. Science, **134**, 505.

LEWANDER, K., G. DAVE, JOHANSSON-SJÖBECK, M.-L., A. LARSSON and U. LIDMAN, 1976: Metabolic effects of insulin in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Gen. Comp. Endocr., **29**, 455–467.

Lidman, U., G. Dave, M.-L. Johansson-Sjöbeck, A. Larsson and K. Lewander, 1979: Metabolic effect of cortisol in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Comp. Biochem. Physiol., **63A**, 339–344.

Lloyd, R. and W. R. White, 1967: Effect of high concentration of carbon dioxide on the ionic composition of rainbow trout blood. Nature, **216**, 1341–1342.

Logan, A. G., R. Morris and J. C. Rankin, 1980: A micropuncture study of kidney function in the river lamprey, *Lampetra fluviatilis* adapted to sea water. J. Exp. Biol., **88**, 239–247.

Love, R. M., 1970: The Chemical Biology of Fishes vol. I. 541 pps, Academic Press, London and New York.

Love, R. M., 1980: The Chemical Biology of Fishes vol. II. 943 pps, Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.

Maceina, M. J., F. G. Nordlie and J. V. Shireman, 1980: The influence of salinity on oxygen consumption and plasma electrolytes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella Val.* J. Fish Biol., **16**, 613–619.

MacKay, W. C., 1974: Effect of temperature on osmotic and ionic regulation in goldfish, *Carassius auratus* L. J. Comp. Physiol., **88**, 1–19.

松宮義晴・金丸彦一郎・岡　正雄・立石　賢, 1982：判別函数を用いた外部形態による天然マダイ当歳魚と人工放流魚の識別. 昭和57年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 302.

松里寿彦・北島　力, 1972：魚病診断のための血色素量測定法の比較. 水産増殖, **19**, 121–127.

Mazeaud, F., 1964: Vitesse de production de l'hyperglycemie en fonction de la temperature chez la Carpe. Intensite de la reponse en fonction de la dose d'hormone. C. R. Soc. Biol., **158**, 36–40.

Mazeaud, M., F. Mazeaud and E. M. Donaldson, 1977: Primary and secondary effects of stress in fish: Some new data with a general review. Trans. Am. Fish. Soc., **106**(3), 201–218.

Mazeaud, M. M. and F. Mazeaud, 1981: 3. Adrenergic responses to stress in fish. Stress and Fish (edited by Pickering), Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco.

McFarland, W. N., 1960: The use of anesthetics for the handling and the transport of fishes. California Fish and Game, **46**(4), 407–431.

McDonald, D. G., H. Hobe and C. M. Wood, 1980: The influence of calcium on the physiological responses of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, to low environmental pH. J. Exp. Biol., **88**, 109–131.

McDonald, D. G. and C. M. Wood, 1981: Branchial and renal acid and ion fluxes in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, at low environmental pH. J. Exp. Biol., **93**, 101–118.

McLeay, D. J., 1973a: Effects of cortisol and Dexamethasone on the pituitary-interrenal axis and abundance of white blood cell types in juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Gen. Comp. Endocr., **21**, 441–450.

McLeay, D. J., 1973b: Effects of a 12-hour and 25-day exposure to kraftpulp mill effluent on the blood and tissues of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can., **30**, 395–400.

McLeay, D. J. and D. A. Brown, 1974: Growth stimulation and biochemical changes in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to bleached kraft pulpmill effluent for 200 days. J. Fish. Res. Board Can., **31**, 1043–1049.

McLeay, D. J. and D. A. Brown, 1975: Effects of acute exposure to bleached kraft pulpmill effluent on carbohydrate metabolism of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during rest and exercise. J. Fish. Res. Board Can., **32**, 753–760.

McLeay, D. J., 1977: Development of a blood sugar bioassay for rapidly measuring stressful levels of pulpmill effluent to salmonid fish. J. Fish. Res. Board Can., **34**, 477–485.

McLeay, D. J. and M. R. Gordon, 1977: Leucocrit: A simple hematological technique for measuring

acute stress in salmonid fish, including stressful concentrations of pulpmill effluent. J. Fish. Res. Board Can., **34**, 2164–2175.

McLeay, D. J. and D. A. Brown, 1979: Stress and chronic effects of untreated and treated bleached kraft pulpmill effluent on the biochemistry and stamina of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can., **36**, 1049–1059.

McWilliams, P. G., 1980: Acclimation to an acid medium in the brown trout, *Salmo trutta*. J. Exp. Biol., **88**, 269–280.

Meyer, D. K., B. A. Westfall and W. S. Platner, 1954: Water and electrolyte balance of goldfish under conditions of anoxia, cold and inanition. Am. J. Physiol., **184**, 553–556.

Milligan, C. L. and C. M. Wood, 1982: Disturbances in hematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental pH in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Exp. Biol., **99**, 397–415.

Minick, M. C. and W. Chavin, 1972: Effects of vertebrate insulins upon serum FFA and phospholipid levels in the goldfish, *Carassius auratus* L., Comp. Biochem. Physiol., **41A**, 791–804.

Minick, M. C. and W. Chavin, 1973: Effects of catecholamines upon serum FFA levels in normal and diabetic goldfish, *Carassius auratus* L. Comp. Biochem. Physiol., **44A**, 1003–1008.

Morata, P., A. M. Vargas, M. L. Pita and F. Sanchez-Medina, 1982a: Hormonal effects on the liver glucose metabolism in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **72B**, 543–545.

Morata, P., A. M. Vargas, M. L. Pita and F. Sanchez-Medina, 1982b: Involvement of gluconeogenesis in the hyperglycemia induced by glucagon, adrenalin and cyclic-AMP in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol., **73A**, 379–381.

諸岡　等, 1967：活魚輸送に関する研究．長崎県水産試験場論文集, (3), 1–53.

村井　衛・青木雄二・西村和久, 1982：マダイ受精卵の46時間輸送結果について．水産増殖, **30**, 43–47.

Murat, J. C. et A. Serfaty, 1975: Effets de l'adrenaline du glucagon et de l'insuline sur le metabolisme glucidique de la Carpe: influence de la temperature. C. R. Soc. Biol., **169**, 228–232.

Murat, J. C. et J. P. Parent, 1975: Effet de l'acclimatation thermique sur la croissance et le metabolisme glucidique chez la Carpe. Donnees preliminaires. Cahiers du Laboratoire de Montreau, (2), 23–34.

Murat, J. C., 1976: Studies on glycogenolysis in the carp liver: Evidence for an amylase pathway for glycogen breakdown. Comp. Biochem. Physiol., **55B**, 461–465.

Murat, J. C., 1976: Recherches sur la mobilisation des glucides tissulaires chez la Carpe. These presentee a l'Universite Paul Sabatier de Toulouse, 1–164.

Murat, J. C. et E. M. Plisetskaya, 1977: Effets du glucagon sur la glycemie, le glycogene et la glycogene-synthetase hepatique chez la Carpe et la Lamproie. C. R. Soc. Biol., **171**, 1302–1305.

Murray, S. A. and C. B. Burton, 1979: Effects of density on goldfish blood-II. Cell morphology. Comp. Biochem. Physiol., **62A**, 559–562.

Murray, S. A., 1980: Effects of loading density on catfish blood. Experientia **36**, 205–206.

Murthy, V. K., P. Reddanna, M. Bhaskar and S. Govindappa, 1981: Muscle metabolism of freshwater fish, *Tilapia mossambica* (Peters) during acute exposure and acclimation to sublethal acidic water. Can. J. Zool., **59**, 1909–1915.

Nace, P. F. and J. E. Schuh, 1961: Environmental temperature change and blood sugar change in the toadfish, *Opsanus tau*. Biol. Bull., **121**, 401.

Nagai, M. and S. Ikeda, 1971a: Carbohydrate metabolism in Fish-I. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid contents in carp. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **37**, 404–409.

Nagai, M. and S. Ikeda, 1971b: Carbohydrate metabolism in fish-II. Effect of dietary composition on

metabolism of glucose-6-^{14}C in carp. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **37,** 410–414.

NAGAI, M. and S. IKEDA, 1972: Carbohydrate metabolism in fish-III. Effect of dietary composition on metabolism of glucose-U-^{14}C and glutamate-U-^{14}C in carp. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **38,** 137–143.

中川平介・稲塚洋一朗・山崎繁久・平田八郎・笠原正五郎, 1982：養殖ハマチに及ぼすクロレラエキス添加飼料の効果—Ⅰ. 成長および血液性状に及ぼす影響. 水産増殖, **30** (2), 67–75.

中川平介・熊井英水・中村元二・笠原正五郎, 1982：養殖ハマチに及ぼすクロレラエキス添加飼料の効果—Ⅱ. 血液性状からみた負荷（空気中放置）抵抗力への効果. 水産増殖, **30** (2), 76–83.

中川平介・笠原正五郎・宇野悦央・見奈美輝彦・明楽公男, 1983：養殖アユの血液性状，体成分に及ぼすクロレラエキス添加飼料の効果. 水産増殖, **30** (4), 192–201.

NAKANO, T. and N. TOMLINSON, 1967: Catecholamine and carbohydrate concentrations in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to physical disturbance. J. Fish. Res. Board Can., **24**(8), 1701–1715.

南西海区ブロック会議魚貝類研究会魚病班, 1980：海産養殖魚類の病害対策の現状と問題点—南西海区ブロック会議魚病班10年の歩み—. 7–14, 日本水産資源保護協会, 東京.

NEALE, N. L., K. V. HONN and W. CHAVIN, 1977: Haematological responses to thermal acclimation in a cold water squaliform (*Heterodontus francisci* GIRARD). J. Comp. Physiol., **B, 115,** 215–222.

NIKINMAA, M., 1982: The effects of adrenaline on the oxygen transport properties of *Salmo gairdneri* blood. Comp. Biochem. Physiol., **71A,** 353–356.

NILSSON, S., T. ABRRAHAMSON and D. J. GROVE, 1976: Sympathetic nervous control of adrenaline release from the head kidney of the cod, *Gadus morhua*. Comp. Biochem. Physiol., **55C,** 123–127.

NISHIMURA, H., W. H. SAWYER and R. F. NIGRELLI, 1976: Renin, cortisol and plasma volume in marine teleost fishes adapted to dilute media. J. Endocr., **70,** 47–59.

丹羽正治・北村元仕・斉藤正行（編）, 1966：1章　血糖. 臨床化学分析Ⅲ. —糖および脂質—（日本化学会編）, 分析ライブラリー3, 1–24, 東京化学同人, 東京.

NOAKS, D. L. G. and J. F. LEATHERLAND, 1977: Social dominance and interrenal cell activity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Pisces, Salmonidae). Env. Biol. Fish., **2**(2), 131–136.

沼田　武, 1975：Ⅱ—4. 適環境試験. 栽培漁業種苗量産技術開発事業報告書, 神水試資料 (226), 26–29.

OIDE, M. and S. UTIDA, 1967: Changes in water and ion transport in isolated intestine of the eel during salt adaptation and migration. Mar. Biol., **1,** 102–106.

OGURI, M., 1960a: Studies on the adrenal glands of teleosts-V. Experimentally induced histological alterations in the interrenal cells of fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **26,** 476–480.

OGURI, M., 1960b: Studies on the adrenal glands of teleost-VI. On the interrenal tissues of chum salmon, *Oncorhynchus keta* (WALBAUM), migrating up river to spawn. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **26,** 981–984.

OGURI, M. and Y. OOSHIMA, 1977: Early changes in the plasma osmolality and ionic concentrations of rainbow trout and goldfish following direct transfer from fresh water to sea water. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **43,** 1253–1257.

奥野忠一・芳賀敏郎・久米　均・吉澤　正, 1972：多変量解析法, 393–400, 日科技連出版社, 東京.

奥野忠一・芳賀敏郎・矢島敬二・奥野千恵子・橋本茂司・古川陽子, 1977：続多変量解析法, 77–114, 日科技連出版社, 東京.

O'NEILL, J. G., 1981: The humoral immune response of *Salmo trutta* L. and *Cyprinus carpio* L. exposed to heavy metals. J. Fish Biol., **19,** 297–306.

大島敏明・和田　俊・小泉千秋, 1983：養殖および天然マダイの脂質成分の比較. 昭和58年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 198.

OTTOLENGHI, C., C. PUVIANI, A. BARUFFALDI and L. BLIGHENTI, 1982: "in vivo" effects of insulin on carbohydrate metabolism of catfish (*Ictalurus melas*). Comp. Biochem. Physiol., **72A,** 35–41.

尾崎久雄, 1968：Ⅰ. 血液の生理, 魚類生理学講座Ⅰ, 1–99, 緑書房, 東京.

尾崎久雄・菊地界善, 1972：稀釈海水中のコイの血液水分量. J. Tokyo Univ. Fish, **59**(1), 27–31.

PARENT, J. P. et F. VELLAS, 1981: Effets de variations thermiques chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* RICH.). Cahiers Du Laboratoire de Montereau, (11), 29–40.

PARRY, G., 1961: Osmotic and ionic changes in blood and muscle of migrating Salmonids. J. Exp. Biol., **38**, 411–427.

PÄRT, P., A. KIESSLING and O. RING, 1982: Adrenaline increases vascular resistance in perfused rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICH.) gills. Comp. Biochem. Physiol., **72C**, r107–108.

PASANEN, S., M. VILJANEN and E. PULKKINEN, 1979: Stress caused by the mark-recapture method to *Coregonus albula* (L.). J. Fish Biol., **14**, 597–605.

PATTERSON, S., I. A. JOHNSTON and G. GOLDSPINK, 1974: The effect of starvation on the chemical composition of red and white muscles in the plaice (*Pleuronectes platessa*). Experientia, **30**(8), 892–894.

PAYAN, P. and A. J. MATTY, 1975: The characteristics of ammonia excretion by a perfused isolated head of trout (*Salmo gairdneri*) : Effect of temperature and CO_2-free ringer. J. Comp. Physiol., **96**, 167–184.

PERRIER, H., C. PERRIER et J. GRAS, 1971: Etude de L'hyperglycemie adrenalinique chez la truite arc-en-ciel d'elevage (*Salmo gairdneri* RICHARDSON) : Action des substances adrenolytiques. C. R. Soc. Biol., **165**, 2141–2144.

PERRIER, H., C. PERRIER, G. PERES et J. GRAS, 1979: Effets immediats de chocs thermiques sur la taux de certains constituants du plasma de la truite arc-en-ciel d'elevage: Composes temoins du stress et fractions proteique. Rev. Can. Biol., **38**, 37–41.

PETERS, G., H. DELVENTHAL and H. KLINGER, 1980a: Stress diagnosis for fish in intensive culture system. Symposium on new developments in the utilization of heated-effluents and of re-circulation systems for intensive aquaculture. European Inland Fisheries Advisory Commission, Norway, 28–30.

PETERS, G., H. DELVENTHAL and H. KLINGER, 1980b: Physiological and morphological effects of social stress in the eel, (*Anguilla anguilla* L.). Arc. Fisch Wiss., **30**, (2/3), 157–180.

PETERS, G., 1982: The effect of stress on the stomach of the European eel, *Anguilla anguilla* L. J. Fish Biol., **21**, 497–512.

PEYRAUD-WAITZENEGGER, M., 1979: Simultaneous modifications of ventilation and arterial Po_2 by catecholamines in the eel, *Anguilla anguilla* L. Participation of α and β effects. J. Comp. Physiol., **B**, **129**, 343–354.

PEYRAUD-WAITZENEGGER, M., L. BARTHELEMY and C. PEYRAUD, 1980: Cardiovascular and ventilatory effects of catecholamines in unrestrained eels (*Anguilla anguilla* L.). A study of seasonal changes in reactivity. J. Comp. Physiol., **B**, **138**, 367–375.

PHILLIPS, J. G. and P. J. MULROW, 1959: Corticosteroid production in vitro by the interrenal tissue of killifish, *Fundulus heteroclitus* (LINN.). Proc. Soc. Expl. Biol. Med., **101**, 262–264.

PIC, P., N. MAYER-GOSTAN and J. MAETZ, 1974: Branchial effects of epinephrine in the seawater-adapted mullet I. Water permeability. Am. J. Physiol., **226**(3), 698–702.

PIC, P., N. MAYER-GOSTAN and J. MAETZ, 1975: Branchial effects of epinephrine in the seawater-adapted mullet II. Na^+ and Cl^- extrusion. Am. J. Physiol., **228**(2), 441–447.

PICKERING, A. D. and D. J. MACEY, 1977: Structure, histochemistry and the effect of handling on the mucous cells of the epidermis of the char, *Salvelinus alpinus* (L.). J. Fish Biol., **10**, 505–512.

PICKERING, A. D., 1981: 1. Introduction: The concept of biological stress. Stress and fish (edited by A. D. Pickering), Academic Press, London, Now York, Toronto, Sydney, San Francisco.

PICKERING, A. D., T. G. POTTINGER and P. CHRISTIE, 1982: Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: A time-course study. J. Fish Biol., **20**, 229–244.

PICKFORD, G. E., A. K. SRIVASTAVA, A. M. SLICHER and P. K. T. PANG, 1974: The stress response in the

abundance of circulating leucocytes in the killifish, *Fundulus heteroclitus*. I. The cold-shock sequence and the effects of hypophysectomy. J. Exp. Zool., **177**, 89–96.

PICUKANS, I. and B. L. UMMINGER, 1979: Comparative activities of glycogen phosphorylase and γ-amylase in livers of carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*). Comp. Biochem. Physiol., **62B**, 455–457.

POTTS, W. T. W., M. A. FOSTER, P. P. RUDY and G. P. HOWELLS, 1967: Sodium and water balance in the cichlid teleost, *Tilapia mossambica*. J. Exp. Biol., **47**, 461–470.

PROSSER, C. L., L. M. BARR, R. D. PINC and C. Y. LAUER, 1957: Acclimation of goldfish to low concentrations of oxygen. Physiol. Zool., **30**, 137–141.

PROSSER, C. L., W. MACKAY and K. KATO, 1970: Osmotic and ionic concentrations in some Alaskan fish and goldfish from different temperatures. Physiol. Zool., **43**, 81–89.

RAFFY, A., 1952: Influence des variations de la temperature sur l'osmoregulation de petites carpes en eau douce et en eau salee. C. R. Soc. Biol., CXLVI, 908–910.

RANDALL, D. J., 1962: Effect of an anesthetic on the heart and respiration of teleost fish. Nature, 195, 506.

RAPKIN, E., 1961: Hydroxide of Hyamine 10X. Packard Technical Bulletin, 1–6.

RENAUD, J. M. and T. W. MOON, 1980: Characterization of gluconeogenesis in hepatocytes isolated from the American eel, *Anguilla rostrata* LESUEUR. J. Comp. Physiol., **135**, 115–125.

RUDER, H. J., R. L. GUY and M. B. LIPSETT, 1972: A Radioimmunoassay for cortisol in plasma and urine. J. Clin. Endocrinol. & Metab., **35**, 219–224.

坂口宏海, 1976: 絶食時におけるハマチの血液・肝すい臓の化学成分などの変化について. 日水誌, **42** (11), 1267–1272.

坂口宏海・浜口　章, 1979: 養殖マダイの生理学的研究—Ⅳ. 冬期の加温飼育による緑肝症の防止と血液性状. 日水誌, **45**, 1371–1373.

坂口宏海・浜口　章, 1981: 養殖マダイの絶食時における血液肝すい臓成分などに与える水温の影響. 日水誌, **47** (1), 27–33.

SAKAMOTO, S. and Y. YONE, 1978: Effect of starvation on hematological characteristics and the contents of chemical components and activities of enzymes in blood serum of red sea bream. J. Fac. Agr. Kyushu Univ., **23**, 63–69.

SAKAMOTO, S., M. FURUICHI and Y. YONE, 1978: Effect of starvation on organ weight and chemical component of red sea bream. J. Fac. Agr. Kyushu Univ., **23**, 71–77.

SANDOR, G., P. VINSON, I. CHESTER-JONES, I. W. HENDERSON and B. J. WHITEHOUSE, 1966: Biogenesis of corticosteroids in the European eel, *Anguilla anguilla* L. J. Endocr., **34**, 105–115.

SANO, T., 1962: Haematological studies of the culture fishes in Japan. 6. Variation in blood constituents of Japanese eel, *Anguilla japonica* during starvation. J. Tokyo Univ. Fish., **48**, 105–109.

SAUNDERS, R. L., 1963: Respiration of the Atlantic cod. J. Fish. Res. Board Can., **20** (2), 373–386.

SCHRECK, C. B. and H. W. LORZ, 1978: Stress responses of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) elicited by cadmium and copper and potential use of cortisol as an indicator of stress. J. Fish. Res. Board Can., **35**, 1124–1129.

SCOTT, A. L. and W. A. ROGERS, 1981: Hematological effects of prolonged sublethal hypoxia on channel catfish, *Ictalurus punctatus* (RAFINESQUE). J. Fish Biol., **18**, 591–601.

関沢泰治, 1978: 魚類と薬物—麻酔剤を例として—. 生態化学, **1** (1), 13–28.

SELYE, H., 1950: Stress and the general adaptation syndrome. Brit. Med. J., (June 17), 1383–1392.

SELYE, H., 1973: The evolution of the stress concept. American Scientist, **61** (6), 692–699.

柴田宣和・衣巻豊輔・市村　博, 1974: 養殖ニジマスの血漿トリグリセリド・コレステリン・遊離脂肪酸・グルコースおよびたんぱく質含量. 東海水研報, 第77号, 77–87.

示野貞夫, 1974：魚類の炭水化物代謝に関する研究. 高知大学水産実験所研究報告, (2), 1–107.

新間弥一郎・市村 博・柴田宣和, 1976：絶食によるニジマス成魚の脂質の変化. 日水誌, **42** (1), 83–89.

Singley, J. A. and W. Chavin, 1975: The adrenocortical-hypophyseal response to saline stress in the goldfish, *Carassius auratus* L. Comp. Biochem. Physiol., **51A**, 749–756.

Slicher, A. M., G. E. Pickford and J. N. Ball, 1962: Effects of ACTH and cold shock on the white cell count of fishes. Annat. Rec., 142, 327.

Smit, G. L., J. Hattingh and A. P. Burger, 1979a: Haematological assessment of the effects of the anesthetic MS222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: Interspecies differences. J. Fish Biol., **15**, 633–643.

Smit, G. L., J. Hattingh and A. P. Burger, 1979b: Haematological assessment of the effects of the anesthetic MS222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: Intraspecies differences. J. Fish Biol., **15**, 645–653.

Smit, G. L., J. Hattingh and A. P. Burger, 1979c: Haematological assessment of the effects of the anesthetic MS222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: Haemoglobin electrophoresis, ATP levels and corpuscular fragility curve. J. Fish Biol., **15**, 655–663.

Smith, A. C., 1976: Occult haemoglobin in fish skin mucus as an indicator of early stress. J. Fish Biol., **9**, 537–341.

Smith, A. C. and F. Ramos, 1980: Automated chemical analysis in fiish health assessment. J. Fish Biol., **17**, 445–450.

Soivio, A., K. Westman and K. Nyholm, 1974: The influence of changes in oxygen tension on the haematocrit value of blood samples from asphyxic rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, **3**, 395–401.

Soivio, A., M. Mälkönen and O. Tuurala, 1974: Effects of asphyxia and MS222 anaesthesia on the circulation of the kidney in *Salmo gairdneri* Richardson, A microscopical study. Ann. Zool. Fennici, **11**, 271–275.

Soivio, A. and A. Oikari, 1976: Haematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius* L. J. Fish Biol., **8**, 397–411.

Soivio, A., K. Nyholm and M. Huhti, 1977: Effects of anaesthesia with MS222, neutralized MS222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol., **10**, 91–101.

Soivio, A. and G. M. Hughes, 1978: Circulatory changes in secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills in hypoxia and anaesthesia. Ann. Zool. Fennici., **15**, 221–225.

Specker, J. L. and C. B. Schreck, 1980: Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **37**, 765–769.

Spieler, R. E., 1974: Short-term serum cortisol concentrations in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to serial sampling and restraint. J. Fish. Res. Board Can., **31**, 1240–1242.

Srivastava, A. K. and U. Agrawal, 1977: Involvment of pituitary-interrenal axis and cholinergic mechanisms during the coldshock leucocyte sequence in a fresh water tropical teleost, *Colisa fasciatus*. Archives Anatomie Microscopique, **66**(2), 97–108.

Stagg, R. M. and T. J. Shuttleworth, 1982: The accumulation of copper in *Platichthys flesus* L. and its effects on plasma electrolyte concentrations. J. Fish Biol., **20**, 491–500.

Stanley, J. G. and W. R. Fleming, 1965: Sodium metabolism in *Fundulus kansae* in fresh water and during adaptation to sea water. American Zoologist, **5**, 688.

Stanley, J. G. and P. J. Colby, 1971: Effects of temperature on electrolyte balance and osmoregulation in the alewife (*Alosa pseudoharengus*) in fresh and sea water. Trans. Am. Fish. Soc., **100**(4), 624–638.

Steele, R., 1975: Influences of corticosteroids on protein and carbohydrate metabolism. Handbook of

Physiology Section 7: Endocrinology vol. VI, Adrenal gland. 135–167, American Physiological Society, Washington.

Stevens, E. D., 1972: Change in body weight caused by handling and exercise in fish. J. Fish. Res. Board Can., **29**, 202–203.

Storer, J. H., 1967: Starvation and the effects of cortisol in the goldfish (*Carassius auratus* L.). Comp. Biochem. Physiol., **20**, 939–948.

Strange, R. J. and C. B. Schreck, 1978: Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Fish. Res. Board Can., **35**, 345–349.

Strange, E. D., 1980: Acclimation temperature influences cortisol and glucose concentrations in stressed channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc., **109**, 298–303.

Strik, J. J. T. W. A., H. H. de Iongh, J. W. A. van Rijn van Alkamade and T. P. Wuite, 1975: Toxicity of chromium (VI) in fish, with special refernce to organoweights, liver and plasma enzyme activities, blood parameters and histological alterations. Sublethal Effects of Toxic Chemicals on Aquatic Animals (edited by Strik), 31–41, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York.

Swift, D. J. and R. Lloyd, 1974: Changes in urine flow rate and haematocrit value of rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson) exposed to hypoxia. J. Fish Biol., **6**, 379–387.

竹田達右・米　康夫, 1971：マダイの栄養に関する研究—Ⅱ．予備飼育で合成飼料あるいは牛肝を摂ったマダイのビタミン B_6 要求量の比較．Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ, (1), 37–47.

武田年秋・鳥島　嘉・平島　豁, 1972：マダイの受精卵およびフ化仔魚の海上輸送について．栽培漁業技術開発研究．1(1), 21–23.

竹村　望, 1950：淡水魚体液の Cl イオン濃度の変化に関する研究．大阪大学医学雑誌, **3**, 329–333.

竹内昌昭・塩瀬淳也・佐々木治雄・金子徳五郎・富永正雄, 1969 a：冬期における養殖コイの生化学的研究—Ⅰ．越冬飼育の経過と分析用供試魚の性状．東海水研報, (59), 1–17.

竹内昌昭・石井清之助, 1969：冬期におけるコイの生化学的研究—Ⅱ．筋肉および肝膵臓の脂肪酸組成とグリコーゲン含量の変化．東海水研報, (59), 19–27.

田村　修・塩崎晴朗・藤原　清・平島　豁, 1967：活魚輸送に関する基礎的研究—Ⅰ．麻酔剤と低温の魚類酸素消費量に及ぼす影響．長崎大学水産学部研究報告, (22), 57–67.

田村　正, 1950：外圏の変化が魚類に及ぼす影響．水産科学研究所報告, **11** (2), 1–35.

田中俊次, 1965：海産魚の陸上輸送を目的とする呼吸作用に関する基礎的研究（予報）．昭和39年度指定研究報告書，活魚輸送技術研究，京都府水産試験場業績, (22), 14–20.

Tandon, R. S. and B. D. Joshi, 1973: Blood glucose and lactic acid levels in the freshwater fish, *Heteropneustes fossilis*, following stress. Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde., **31**, 210–216.

Tashima, L. and G. F. Cahill Jr., 1964: Role of glucagon and insulin in the carbohydrate metabolism of the toadfish. Excerpta Medica, International Congress Series, **74**, 140.

Tashima, L. and G. F. Cahill Jr., 1968: Effects of insulin in the toadfish, *Opsanus tau*. Gen. Comp. Endocr., **11**, 262–271.

Van Den Thillart, G., F. Kesbeke and A. van Waarde, 1976: Influence of anoxia on the energy metabolism of goldfish, *Carassius auratus* (L.). Comp. Biochem. Physiol., **55A**, 329–336.

Thorpe, A. and B. W. Ince, 1974: The effects of pancreatic hormones, catecholamines and glucose loading on blood metabolites in the northern pike (*Esox lucius* L.). Gen. comp. Endocr., **23**, 29–44.

Tirri, R. and P. Ripatti, 1982: Inhibitory adrenergic control of heart rate of perch (*Perca fluviatilis*) in vitro. Comp. Biochem. Physiol., **73C**, 399–401.

Tomasso, J. R., C. A. Goudie, B. A. Simco and K. B. Davis, 1980: Effects of environmental pH and

calcium on ammonia toxicity in channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc., **109,** 229–234.

Tomasso J. R., K. B. Davis and N. C. Parker, 1982: Plasma corticosteroid dynamics in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), during and after oxygen depletion. J. Fish Biol., **18,** 519–526.

Trout, D. L., E. H. Estes, Jr. and J. S. Friedberg, 1960: Titration of free fatty acids of plasma: A study of current methods and a new modification. J. Lipid Research, **1**(3), 199–202.

内田清一郎, 1974：現代動物学の課題.（日本動物学会編), **2**, 53–82, 東京大学出版会, 東京.

Ultsch, G. R., M. E. Ott and N. Heisler, 1981: Acid-base and electrolyte status in carp (*Cyprinus carpio*) exposed to low environmental pH. J. Exp. Biol., **93,** 65–80.

Umminger, B. L., 1969a: Physiological studies on supercooled killifish I. Serum inorganic constituents in relation to osmotic and ionic regulation at subzero temperatures. J. Exp. Zool., **172,** 283–302.

Umminger, B. L., 1969b: Physiological studies on supercooled killifish II. Serum organic constituents and problem of supercooling. J. Exp. Zool., **172,** 409–424.

Umminger, B. L., 1970: Effects of subzero temperatures and trawling stress on serum osmolality in the winter flounder, *Pseudopreuronectes americanus*. Biol. Bull., **139,** 574–579.

Umminger, B. L., 1971: Patterns of osmoregulation in freshwater fishes at temperature near freezing. Physiol. Zool., **44,** 20–27.

Umminger, B. L., 1973: Death induced by injection stress in cold-acclimated goldfish, *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol., **45A,** 883–887.

Umminger, B. L. and D. H. Gist, 1973: Effects of thermal acclimation on physiological responses to handling stress, cortisol and aldosterone injections in the goldfish, *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol., **44A,** 967–977.

Umminger, B. L. and D. Benziger, 1975: In vitro stimulation of hepatic glycogen phosphorylase activity by epinephrine and glucagon in the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus*. Gen. Comp. Endocr., **25,** 96–104.

Umminger, B. L., D. Benziger and S. Levy, 1975: In vitro stimulation of hepatic glycogen phosphorylase activity by epinephrine and glucagon in the killifish, *Fundulus heteroclitus*. Comp. Biochem. Physiol., **51C,** 111–115.

Vernier, J. M. et M. F. Sire, 1978a: Etude "in vitro" de la glycogene phosphorylase hepatique de la truite arc-en-ciel, son controle par le glucose, les corticoides, l' adrenaline et le glucagon. Gen. Comp. Endocr., **34,** 360–369.

Vernier, J. M. et M. F. Sire, 1978b: Etude "in vitro" des effets de l'adrenaline, des glucorticoides et du jeune sur les activites de la glycogene phosphorylase, de la glucose-6-phosphatase et sur la teneur en glycogene du foie de la truite arc-en-ciel. Gen. Comp. Endocr., **34,** 370–376.

De Vlaming, V. L. and R. J. Pardo, 1975: In vitro effects of insulin on liver lipid and carbohydrate metabolism in the teleost *Notemigonus crysoleucas*. Comp. Biochem. Physiol., **51B,** 489–497.

Wahlqvist, I., 1980: Effects of catecholamines on isolated systemic and branchial vascular beds of the cod, *Gadus morhua*. J. Comp. Physiol., **137,** 139–143.

Waiwood, K. G., 1980: Changes in haematocrit of rainbow trout exposed to various combinations of water hardness, pH and copper. Trans. Am. Fish. Soc., **109,** 461–463.

Walker, R. M. and P. H. Johansen, 1977: Anaerobic metabolism in goldfish (*Carassius auratus*). Can. J. Zool., **55**(8), 1304–1311.

Walton, M. J. and C. B. Cowey, 1979a: Gluconeogenesis by isolated hepatocytes from rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **62B,** 75–79.

Walton, M. J. and C. B. Cowey, 1979b: Gluconeogenesis from serine in rainbow trout, *Salmo gairdneri* liver. Comp. Biochem. Physiol., **62B,** 497–499.

Wardle, C. S., 1972: The changes in blood glucose in *Pleuronectes platessa* following capture from the

wild: A stress reaction. J. Mar. Biol. Ass. U. K., **52,** 635–651.

WARDLE, C. S., 1978: Non-release of lactic acid from anaerobic swimming muscle of plaice, *Pleuronectes platessa* L. : A stress reaction. J. Exp. Biol., **77,** 141–155.

WEBER, R. E., S. C. WOOD and B. J. DAVIS, 1979: Acclimation to hypoxic water in facultative air-breathing fish: Blood oxygen affinity and allosteric effectors. Comp. Biochem. Physiol., **62A,** 125–129.

WEDEMEYER, G., 1970: Stress of anaesthesia with MS222 and benzocaine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., **27,** 909–914.

WEDEMEYER, G., 1971: The stress of formalin treatment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can., **28,** 1899–1904.

WEDEMEYER, G., 1972: Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., **29,** 1780–1783.

WEDEMEYER, G., 1973: Some physiological aspects of sublethal heat stress in the juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can., **30,** 831–834.

WEDEMEYER, G. A., 1976: Physiological response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to handling and crowding stress in intensive fish culture. J. Fish. Res. Board Can., **33,** 2699–2702.

WEDEMEYER, G. A. and W. T. YASUTAKE, 1977: Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. Technical Papers of the U. S. Fish and Wildlife Service, **89,** 1–19.

WEDEMEYER, G. A., R. L. SAUNDERS and W. C. CLARK, 1980: Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids. Marine Fisheries Review, **42,** 1–14.

WEDEMEYER, G. A. and D. J. MCLEAY, 1981: Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. Stress and Fish (ed. A. D. Pickering), 247–275, Academic Press, London.

WITTENBERGER, C. and I. V. DIACIUC, 1965: Effort metabolism of lateral muscles in carp. J. Fish. Res. Board Can., **22**(6), 1397–1406.

WITTENBERGER, C., 1968: Alterations of the carbohydrate metabolism in trout, induced by effort and hypoxia. Rev. Roum. Biol.,-Zoologie, Tome., **13**(2), 131–137.

WITTENBERGER, C., 1972: The glycogen turnover rate in mackerel muscles. Mar. Biol., **16,** 279–280.

WITTENBERGER, C., D. COPREAN and L. MORAR, 1975: Studies on the carbohydrate metabolism of the lateral muscles in carp (Influence of phloridzin, insulin and adrenaline). J. Comp. Physiol., **101,** 161–172.

WOO, N. Y. S. and S. I. CHEUNG, 1980: Metabolic effects of starvation in the snakehead, *Ophiocephalus maculatus*. Comp. Biochem. Physiol., **67A,** 623–627.

WOO, N. Y. S. and A. C. Y. FUNG, 1980: Studies on the biology of the red sea bream, *Chrysophrys major*, I. Temperature tolerance. Mar. Ecol. Prog. Ser., **3,** 121–124.

WOO, N. Y. S. and A. C. Y. FUNG, 1981: Studies on the biology of the red sea bream, *Chrysophrys major* II. Salinity adaptation. Comp. Biochem. Physiol., **69A,** 237–242.

WOO, N. Y. S. and J. C. MURAT, 1981: Studies on the biology of the red sea bream, *Chrysophrys major* III. Metabolic response to starvation in different salinities. Mar. Biol., **61,** 255–260.

WOOD, S. C. and K. JOHANSEN, 1972: Adaptation to hypoxia by increased HbO_2 affinity and decreased red cell ATP concentration. Nature New Biology, **237,** 278–279.

山口正男, 1978：タイ養殖の基礎と実際. 247–250, 恒星社厚生閣, 東京.

YAMAMOTO, K., Y. ITAZAWA and H. KOBAYASHI, 1980: Supply of erythrocytes into the circulating blood from the spleen of exercised fish. Comp. Biochem. Physiol., **65A,** 5–11.

山下秀夫, **1967**：カサゴの血液学的研究－Ⅰ．環境水の塩素量と血液水分量，比重，血清蛋白量および赤血球数との相互関係，日水誌，**33**(2)，81–90.

YAMASHITA, H., 1970: Blood characteristics of marine fish in relation to the change of osmotic pressure of sea water-II. Change of osmotic pressure of serum and the electrophoretic pattern of the serum protein of young yellowtail. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **36**(5), 450–454.

米　康夫・古市政幸・四反田勝久，**1971 a**：マダイのビタミン要求に関する研究—Ⅰ．イノシトール要求と餌料中グルコース量との関係．日水誌，**37**，149–155.

米　康夫・古市政幸・酒本秀一，1971 b：マダイの栄養に関する研究—Ⅲ．各種油脂の栄養価と至適脂肪量．Rep. Fish. Res. Lab., Kyushu Univ., (1), 49–60.

YONE, Y. and M. FUJII, 1975a: Studies on nutrition of red sea bream-XI. Effect of ω_3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth ratio and feed efficiency. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**, 73–77.

YONE, Y. and M. FUJII, 1975b: Studies on nutrition of red sea bream-XII. Effect of ω_3 fatty acid supplement in a corn oil diet on fatty acid composition of fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **41**, 79–86.

ZEITOUN, I. H., L. D. HUGHES and D. E. ULLREY, 1977: Effect of shock exposures of chlorine on the plasma electrolyte concentrations of adult rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., **34**, 1034–1039.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

瀬戸内海西部周防灘における基礎生産について

山口　峰生・安楽　正照

Primary Productivity in Suō-Nada, Western Seto Inland Sea

Mineo YAMAGUCHI and Masateru ANRAKU

Phytoplankton biomass and primary productivity were investigated in 1982-83 in Suō-Nada, western Seto Inland Sea. Chlorophyll-*a* was determined fluorometrically and primary productivity was measured by *in situ* ^{13}C tracer technique. Phytoplankton biomass in carbon was also estimated by carbon/chlorophyll-*a* ratio (40).

Chlorophyll-*a* values varied between 0.15 and 8.76 $mg \cdot m^{-3}$, with the mean of 1.54 $mg \cdot m^{-3}$. This indicates that the concentrations in Suō-Nada are lower than the values reported from the neritic waters of Japan.

Horizontal distribution of chlorophyll-*a* revealed that the concentrations were higher in western areas than in the east. Chlorophyll maximum was noticed near the bottom during stratified seasons. This was presumably due to the growth of phytoplankton there rather than the sinking cells from the upper layer. Negative correlation between chlorophyll concentration and transparency was obtained. In nearshore areas in Suō-Nada, however, variations of transparency seemed to be influenced by the amount of detritus and zooplankton.

Daily primary productivities in the water column were 0.31 in May and 0.45 $gC \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$ in July, 1983, respectively. These values were nearly equal to the previous values measured in Seto Inland Sea using ^{14}C method. Calculated phytoplankton biomass was 2,759 tons in carbon and annual productivity was 139 $gC \cdot m^{-2} year^{-1}$. Based on this value, primary productivity in Suō-Nada was estimated to be 430,000 tons as carbon per year.

植物プランクトンによる基礎生産は，海洋における生物生産の根幹をなすものである。したがって基礎生産の把握は，食物連鎖の各段階における生物生産の量的関係を明らかにする生態学的観点のみならず，漁業資源の維持，管理に有用な情報を得るという産業的視点からも重要である。

STEEMANN NIELSEN (1952) が開発した放射性同位元素 ^{14}C を用いる基礎生産測定法は標準的な手法として国際的にも認められてきた。しかし，放射性物質の環境への悪影響を考慮し，近年 ^{14}C の使用が制限される傾向にあり，これに代るものとして安定同位元素 ^{13}C を用いる方法が開発されつつある (SLAWYK *et al.* 1977, SLAWYK and COLLOS 1982, HAMA *et al.* 1983)。^{13}C 法と ^{14}C 法で測定した光合成速度の間には高い相関があり，^{14}C 法に代って ^{13}C 法で十分有用であると考えられている (HAMA *et al.* 1983)。

1984年5月15日受理　南西海区水産研究所業績第141号，〒739—04，広島県佐伯郡大野町

瀬戸内海における基礎生産の^{14}C 法による研究は，備後灘（松平1964），周防灘を除く瀬戸内海（遠藤1970），および燧灘・備後灘（ENDO and OKAICHI 1977）があるが，周防灘においてはほとんど行なわれていない。また，今後^{14}C による基礎生産量測定を現場で行うことはほとんど不可能であり，^{13}C 法による測定法の確立が急務とされている。

著者らは1982—83年にかけて，周防灘における植物プランクトン現存量の水平・鉛直分布および^{13}C 法による基礎生産量の測定を行ったので，その結果を報告する。なお本研究は科学技術庁科学技術振興調整費による「海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究」の一部として行われたものである。

本文に先立ち，^{13}C 法による基礎生産量測定に関して，懇切に御教示頂いた名古屋大学水圏科学研究所浜健夫先生ならびに筑波大学高橋正征博士に謝意を表する。また，調査にあたっては南西海区水産研究所調査船しらふじ丸および山口県内海水産試験場調査船みどりの乗組員各位に多大の御協力を頂いたことを記して感謝する。

材料と方法

1. 植物プランクトン現存量の測定

植物プランクトン現存量の測定は，Fig. 1 に示す調査点（以下 St. と略す）で1982年7月，

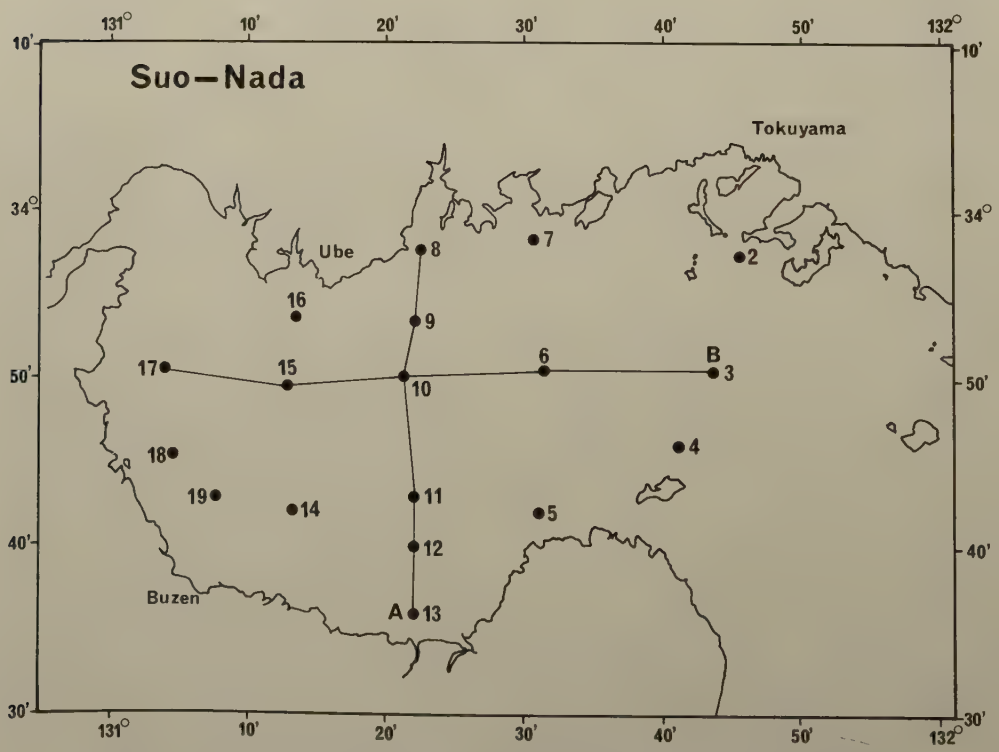


Fig. 1 Location of sampling stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

10月，1983年5月，7月，10月の計5回実施した。現存量はクロロフィル *a* を測定し，炭素/クロロフィル *a* 比を乗じて炭素量として求めた。炭素/クロロフィル *a* 比は，周防灘でこれまで報告されているリン酸塩濃度（吉岡1983，藤本他1979）に基づき，RILEY（1965）に従って40とした。クロロフィル *a* は，バンドーン採水器を用いて0，5，10，20，30，40，B-1m 層より採水後，ガラス繊維濾紙（ワットマン GF/C，47mm）で500mlないし1,000mlを濾過し，濾紙を−20℃で凍結保存後，西条（1975）に従い90%アセトンで抽出し，螢光光度計（TURNER DESIGNS 社製10—005型）により測定した。有光層内のクロロフィル *a* 現存量は，実測層間のクロロフィル *a* が直線的に増減するものとし，それらの層間の面積を台形法で計算しその総和として求めた。積算は表層から有光層深度（透明度深の3倍）まで行ったが，有光層深度がその St. の水深を越える場合は表層から底層まで実施した。なお，1983年には粒状態有機炭素および窒素（POC，PON）の測定も行った。

2. 基礎生産量の測定

基礎生産量の測定は^{13}C 法により，Fig. 1 に示す St. 3, 11, 17の3点において1983年5月と7月に実施した。試水の採取はクロロフィル *a* の場合と同様で，採水後大型の動物プランクトンを除くため網目300μm のネットで濾過した。濾液を1.2 l 容のガラス瓶（明暗瓶各1本）に満たした後，基質として $NaH^{13}CO_3$ 溶液（90atom%）を炭素量で2.785mg・l^{-1} 加え，これを各採水層に5時間（10〜15時）吊下げた。5時間後各試水を450°Cで4時間空焼きしたガラス繊維濾紙（ワットマン GF/F，47mm）で濾過し，濾紙を−20°Cで凍結保存した。各試料は無機態炭素を除くため HCl 蒸気中に1時間さらした後，真空デシケータ中で乾燥し，重炭素分析計（柳本製作所 MSI—20）で$^{12}C/^{13}C$ 同位体比を測定した。なお採水時に粒状態有機炭素（POC），a_{ns}（後述），クロロフィル *a* および全炭酸（ΣCO_2）測定用の試料も採取した。POC および PON は CHN コーダ（柳本製作所 MT—3）で，クロロフィル *a* は前述の螢光法により測定した。またΣCO_2 は pH とアルカリ度による方法（STRICKLAND and PARSONS 1968）により船上で測定した。

本研究で用いた重炭素分析計においては，試料は CNコーダで燃焼後 CO_2 の形で4重極管型質量分析管に導入される。CO_2 には質量数44から49まで各種の分子が存在するが，質量数44（$^{12}C^{16}O_2$），45（$^{13}C^{16}O_2$）以外は存在比が小さいため無視できる。したがって，質量数44と45のピーク高を求めれば試料中の^{13}C atom%を計算できる。すなわち^{13}C atom%の定義より，

$$^{13}C\ \text{atom}\ \% = \frac{[^{13}C]}{[^{12}C]+[^{13}C]} \times 100 = \frac{100}{R+1}$$

ここで R（$^{12}C/^{13}C$ 同位体比）は下式で与えられる。

$$R = \frac{\text{質量数44のピーク高}}{\text{質量数45のピーク高}}$$

吊下げ前後の ^{13}C 量に注目し SLAWYK *et al.*（1979）の式を変形すると

$$P_0 \cdot a_{ns} + \Delta P \cdot a_{ic} = (P_0 + \Delta P) \cdot a_{is} \cdots\cdots (1)$$

ここで　P_0：吊下げ前の POC 量（$mgC \cdot m^{-3}$）

ΔP：同化された炭素量（$mgC \cdot m^{-3}$）

a_{ns}：自然状態の POC の^{13}C atom%

a_{is}：吊下げ後の POC の^{13}C atom%

a_{ic}：ΣCO_2 中の^{13}C atom%

a_{ic} は下式で計算できる。

$$a_{ic}=\frac{\Sigma CO_2\text{中の炭素量}\times 0.11+\text{基質中の炭素量}\times 0.9}{\Sigma CO_2\text{の炭素量}+\text{基質中の炭素量}}\times 100$$

(1)式より

$$\Delta P = P_0 \cdot \frac{(a_{is}-a_{ns})}{(a_{ic}-a_{is})}$$

求める基礎生産速度 Pr（$mgC \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$）は

$$Pr=\frac{\Delta P \cdot f}{t}$$

ここで　t：吊下げ時間

f：^{13}C 同位体分別補正係数（Hama *et al.* 1983）

水柱当りの日生産量（$gC \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$）は，上記の方法で得られた各層ごとの基礎生産速度を，現在量の場合と同じ方法で深度について積算し，調査時の日照時間（14時間）を乗じて求めた。

3. 一般海況

各調査時における水温および塩分は TS 水質モニター（鶴見精器製モデル1）により，また透明度はセッキー板によりそれぞれ測定した。

結　　果

1. 一般海況

周防灘における表層（0m）の水温，塩分および透明度の水平分布を Fig. 2 に示す。

水温は，5月は7，10月より低温で，東部で16°C，西部で19°Cと西高東低であった。7月の水温は最も高く，また5月同様西高東低の傾向がみられ，1982年には21°～24°C，1983年には25°～28°Cであった。10月には灘全体で等温となり21°～22°Cに下降した。

塩分は1982年7月を除くすべての調査期間を通じてほぼ31～32‰であり，水温の分布とは逆に灘東部で高く南部から南西部で低い傾向が認められた。1982年7月には，調査前に多量の降雨があったため，灘北部に非常に低かんな水が分布した。

透明度は全般的に灘東部から西部にかけて低下する傾向があり，1982年には灘中央部から東部で高かった。1983年5月には灘北西部の関門海峡寄りの水域と南部で低く，7月には灘全体で5～12mと高かったが，10月には全域で5m以浅に低下した。

Fig. 2 Horizontal distributions of surface temperature, salinity and transparency.

Fig. 3 に Fig. 1 に示す南北線 A (St. 8～13) における水温，塩分の鉛直分布を示す。

5月，7月には5～15m付近に水温躍層が形成され，表層と底層の温度差は4°～8°Cであった。10月の水温は表層から底層にかけて一様になり，鉛直混合による攪拌がうかがえた。

一般に塩分の躍層は認められず，底層までほぼ一様に分布していた。1982年7月には降雨による著しい塩分低下の影響が5m以浅で認められた。

東西線 B (St. 17～3) における水温・塩分の鉛直分布によれば (Fig. 4)，5月と7月には成

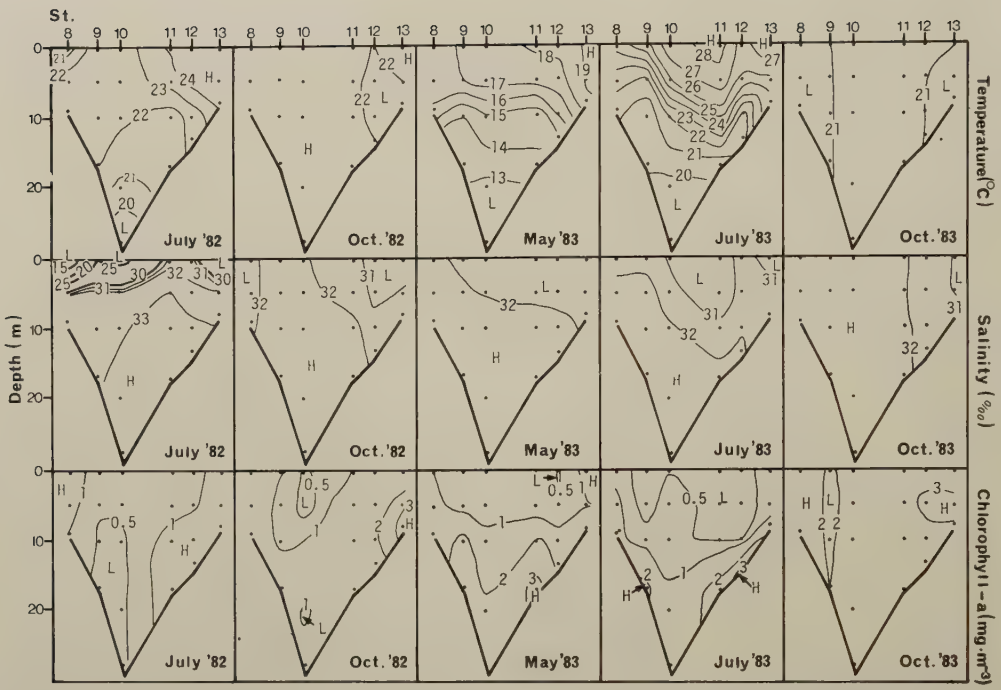


Fig. 3 Vertical profiles of temperature, salinity and chlorophyll-*a* along the north-south line A in Fig. 1.

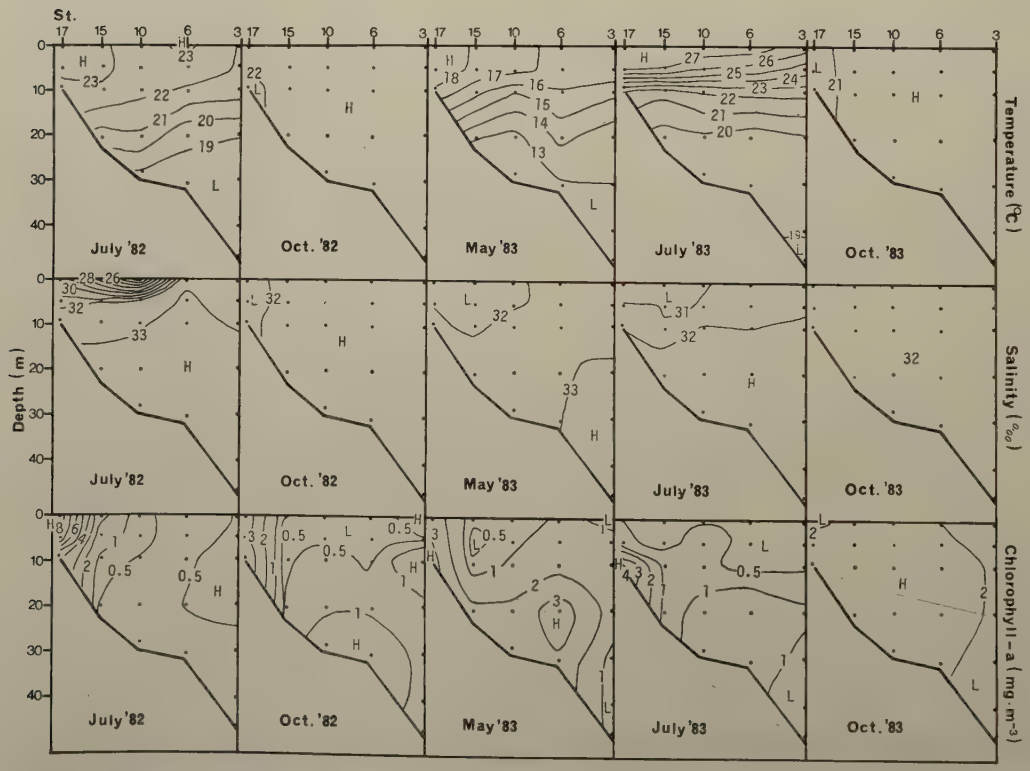


Fig. 4 Vertilcal profiles of temperature, salinity and chlorophyll-*a* along the east-west line B in Fig. 1.

層が発達していた。塩分は表層から底層まで一様の分布を示したが，1982年7月には灘西部から中央部の表層付近で塩分低下が認められた。

2. 植物プランクトン現存量

表層（0 m）におけるクロロフィル *a*（mg·m^{-3}）の水平分布は（Fig. 5），1982年には7月，10月とも灘西部ほど高く，最高6～8mg·m^{-3}であるのに対して，東部では1.0mg·m^{-3}以下であった。1983年のクロロフィル *a* は1982年に比べ全般に低く3.0mg·m^{-3}以下であり，西部での高濃度域も認められなかった。特に，1983年7月は灘全域で0.5mg·m^{-3}以下で，前年に比べると著しく低濃度であった。

南北線 A における鉛直分布によれば（Fig. 3），クロロフィル *a* は1982年10月に南部底層付近で2.0mg·m^{-3}以上とやや高い部分が認められたものの，7月，10月とも表層から底層まで1.0 mg·m^{-3}とほぼ一様の分布を示した。1983年5月，7月には，クロロフィル *a* は表層で低く底層で高い傾向が認められたが，10月には南部の底層でやや高いものの全層を通じてほぼ2.0mg·m^{-3}と一様に分布していた。

東西線 B における鉛直分布をみると（Fig. 4），クロロフィル *a* は1982年7月，10月とも灘西部の表層から底層にかけて一様に高かったが，1983年5月，7月には灘西部および中央部の底層付近ほど高く，表層で低い傾向が認められた。10月には南北断面と同様に2.0mg·m^{-3}と一様の分布を示した。

各観測点の各層におけるクロロフィル *a* の最大，最小および平均値を Table 1 に示す。周防灘のクロロフィル *a* は0.15～8.76mg·m^{-3}の範囲にあり，全調査期間の平均は1.54mg·m^{-3}であった。また，両年とも5月と10月にやや高い傾向がうかがえた。

有光層内の植物プランクトン現存量は1982年には7，10月とも灘西部および南西部で1.2gC·m^{-3}以上と高く，クロロフィル *a* の水平分布傾向とほぼ一致していた（Fig. 5）。1983年は前年と様相が異なり，5月には灘中央部から東部にかけて，7月には灘北西部の関門海峡寄りで，10月には灘東部にそれぞれ現存量の高い海域が認められた。各 St. における現存量は0.11～1.84gC·

Table 1. Chlorophyll-*a* concentration and phytoplankton biomass (C) in Suō-Nada, western Seto Inland Sea. Phytoplankton biomass in carbon was estimated based on the C/Chlorophyll ratio (40) derived from Riley (1965).

Date	Chlorophyll-a Concentration (mg·m^{-3})		Phytoplankton Biomass				
			Chlorophyll-*a* (mg·m^{-2})		Carbon (gC·m^{-2})		Areal Total (ton C)
	Min Max	Mean	Min Max	Mean	Min Max	Mean	
July '82	0.28-8.76	1.29	2.7-40.1	16.2	0.11-1.60	0.65	2,015
Oct. '82	0.25-6.67	1.74	7.0-45.9	26.4	0.28-1.84	1.06	3,286
May '83	0.36-4.56	1.49	9.6-44.8	25.1	0.38-1.79	1.00	3,100
July '83	0.15-4.82	0.99	5.8-44.3	19.6	0.23-1.77	0.78	2,418
Oct. '83	1.40-3.86	2.20	15.7-32.9	23.9	0.63-1.32	0.96	2,976
Mean		1.54		22.2		0.89	2,759

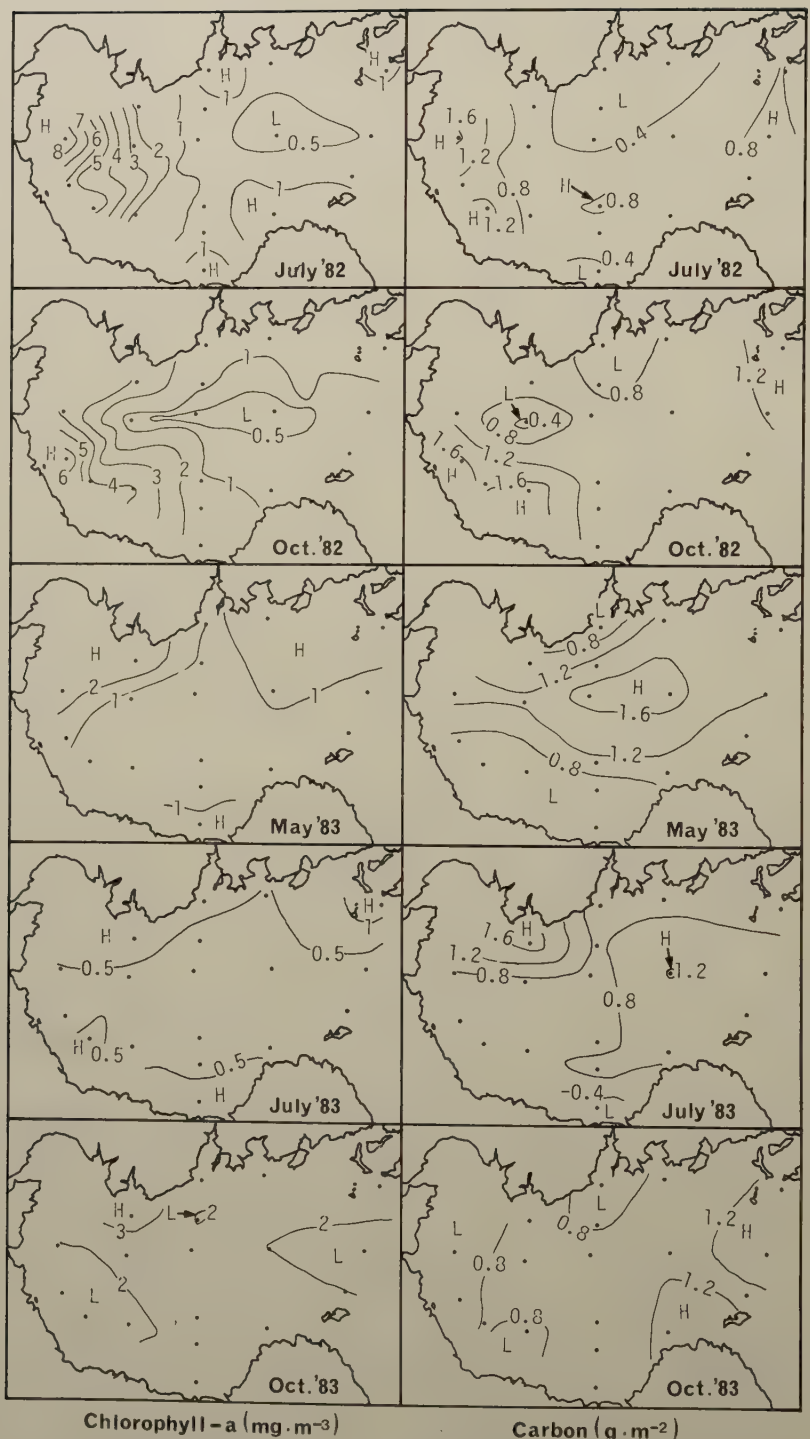


Fig. 5 Horizontal distributions of surface chlorophyll-*a* and phytoplankton biomass in carbon.

m^{-2} で各調査時の平均は0.89gC・m^{-2} であり，クロロフィル *a* と同様に5月と10月に高い傾向がうかがえた（Table 1）。

3. 基礎生産量

1983年5月に St. 3, 11, 17の3地点で得られた基礎生産速度，クロロフィル *a* および単位クロロフィル *a* 当りの生産速度（以下 Ass. No. と略す）の鉛直分布を Fig. 6 に示す。

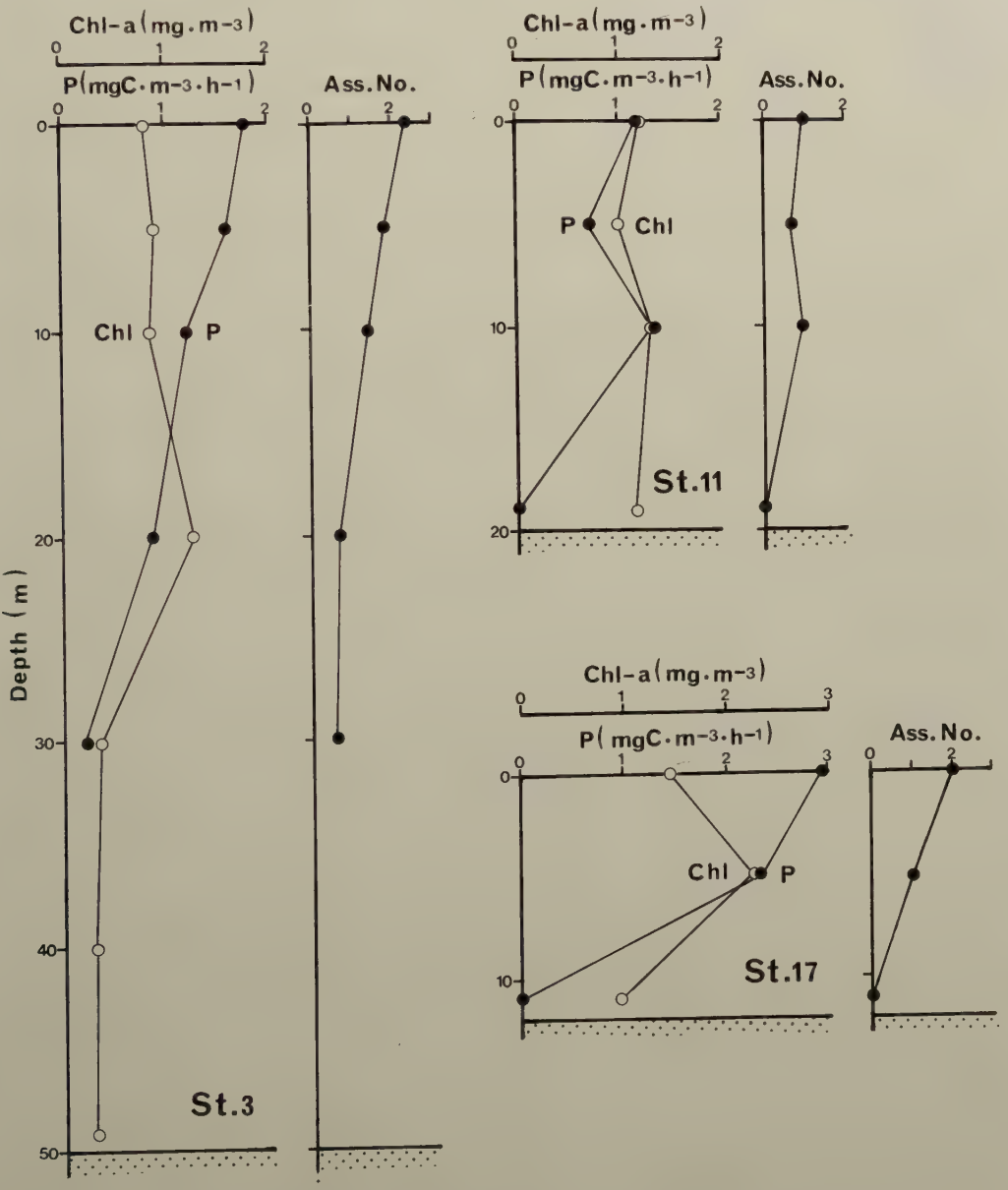


Fig. 6 Vertical profiles of photosynthetic rate (P), chlorophyll-*a* (Chl) and photosynthetic rate per unit amount of chlorophyll-*a* (Ass. No.) at three representative stations in May, 1983.

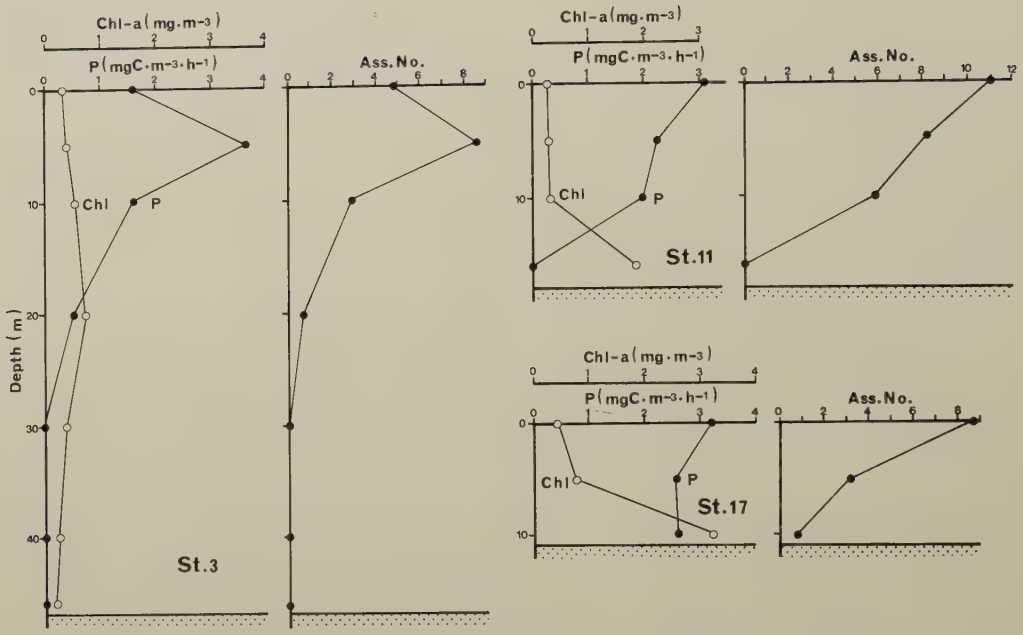


Fig. 7 Vertical profiles of photosynthetic rate (P), chlorophyll-*a* (Chl) and photosynthetic rate per unit amount of chlorophyll-*a* (Ass. No.) at three representative stations in July, 1983.

5月には St. 3, 17 の生産速度は表層で最も高く，各々1.8, 2.9mgC·m^{-3}·h^{-1} であり底層にゆくにつれてほぼ直線的に減少した。St. 11 では 10m 層に極大が存在し，その生産速度は 1.3mgC·m^{-3}·h^{-1} であった。Ass. No は一般に表層から底層にかけて減少傾向を示し，表層において1.0～2.3 mgC·mgChl^{-1}·h^{-1}の範囲にあった。

7月 (Fig. 7) には St. 3 の5m層に3.6mgC·m^{-2}·h^{-1} の極大が認められたが，St. 11, 17 では表層に生産速度の極大が存在し各々 3.1, 3.7mgC·m^{-3}·h^{-1} であった。また，St. 17 では B-1m 層 (10m) でも 2.6mgC·m^{-3}·h^{-1} と5m層とほぼ等しい生産速度が認められた。表層における Ass. No. は 4.8～11.0 mgC·mgChl^{-1}·h^{-1} と5月に比べるとはるかに高い値が得られた。

Table 2. Photosynthetic rate, daily and annual primary productivity measured by ^{13}C tracer technique at three representative stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Date	Station	Transparency (m)	Photosynthetic Rate (mgC·m^{-2}·h^{-1})	Daily productivity (gC·m^{-2}·day^{-1})	Annual productivity (gC·m^{-2}·yr^{-1})
May 18 '83	3	7.5	31.3	0.44	159.9
May 17 '83	11	4.5	15.6	0.22	79.7
May 16 '83	17	4.0	20.1	0.28	102.7
July 28 '83	3	8.0	38.3	0.54	195.7
Aug. 2 '83	11	10.8	29.7	0.42	151.8
July 29 '83	17	8.5	28.4	0.40	145.1
	Mean	7.2	27.2	0.38	139.2

各 St. における水柱当りの日生産量（$gC \cdot m^{-2} \cdot day^{-1}$）は，5月に0.22～0.44（平均0.31），7月に0.40～0.54（平均0.45）であった。また St. 別にみると5月，7月とも灘東部の St. 3 で最も高く，中央部の St. 11，西部の St. 17 ではほぼ等しい値が得られた（Table 2）。

考　　察

周防灘は瀬戸内海西部に位置し総面積3,100 km^2，平均深度23.7mで，内海では伊予灘，播磨灘に次いで第3位の規模をもつ灘である（村上1976）。海況調査結果で述べたように，周防灘の水温は南高北低で，高水温期には灘南西部で部分的な高水温域が認められ，停滞域の存在が推察された。一方，塩分は東高西低で，豊後水道系水の流入が示唆される。透明度の分布は西部海域ほど低く，懸濁物が多いと考えられる。神戸海洋気象台（科学技術庁，印刷中）の報告によると，周防灘は伊予灘から進入してくる外洋系水，灘中・西部の固有水，山口県側の沿岸水，福岡・大分両県側の沿岸水，関門海峡から進入する外洋系水の5水塊に区別され，栄養塩の分布もこの水塊配置と一致している。今回得られた結果もこのような水塊分布を反映するものであった。

周防灘のクロロフィル *a* は0.15～8.76$mg \cdot m^{-3}$の範囲にあり，各調査期の平均で1.54$mg \cdot m^{-3}$であった。日本周辺海域で報告されている値は，瀬戸内海で0.11～7.3$mg \cdot m^{-3}$（遠藤1970），内湾性の強い東京湾で5～200$mg \cdot m^{-3}$（市村・小林 1964），伊勢湾で全域全層の平均4.17 $mg \cdot m^{-3}$（岩崎1983），福岡湾で平均7.5 $mg \cdot m^{-3}$（米他1964），長崎湾で平均5.03 $mg \cdot m^{-3}$（入江他1965）であり，周防灘の値は内湾域の値より低いが，従来瀬戸内海で得られた値と一致した。また外洋域である黒潮域の0.1～0.2 $mg \cdot m^{-3}$や親潮域の0.4～0.7 $mg \cdot m^{-3}$（Saijo and Ichimura 1960）の値よりは高い。したがって周防灘のクロロフィル *a* は，外洋域ほど低くなく内湾水域に準ずる値とみなすことができる。

表層におけるクロロフィル *a* の水平分布と海況との関係をみると，水温，塩分とは良い対応がみられないが，透明度とよく似た分布を示している（Fig. 2 および 5）。各 St. における平均クロロフィル *a*（対数値）と透明度の関係をみると（Fig. 8），両者の間には各調査時とも負の相関が認められ，Saijo and Ichimura (1960) が黒潮や親潮水域で観察した結果と一致した。しかし，全調査期のデータを総合した時の相関係数は−0.67であり，また1982年7月には沿岸寄りの St. でクロロフィル *a* が低いにも拘らず透明度が高くな

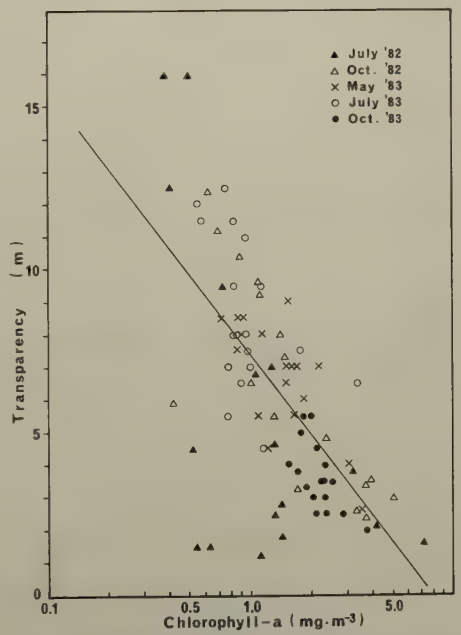


Fig. 8 Relationship between chlorophyll concentration and transparency in Suō-Nada on the semi-logarithmic scale.

いことが認められた。これは沿岸域では陸水あるいは底泥に由来する非植物プランクトン態懸濁物の影響が，透明度に大きく関与しているためと考えられる。

クロロフィル *a* の鉛直分布は，成層の発達した1983年5月と7月には底層で高く表層で低い傾向が認められた。このような亜表層におけるクロロフィル極大の要因については，沈降してきた老化植物プランクトンの集積とその層における栄養条件の好転に伴う再増殖（STEELE and YENTSCH 1960），底層付近の低照度に適応した植物プランクトンの増殖（STEEMANN NIELSEN and HANSEN 1959）等が考えられている。底層付近のクロロフィル極大が老化細胞の沈降によるとすれば，C/N 比の増大，全植物色素（クロロフィル *a* ＋フェオ色素）当りのクロロフィル *a* 比の低下が考えられる。ここで Fig. 1 に示す南北（St. 8-13）および東西線（St. 17-3）における C/N 比および植物色素当りのクロロフィル *a* 比を見ると（Fig. 9），C/N 比は殆んどの St. で表層より底層で低く，ほぼ6～8の範囲で推移していた。FUKAMI *et al.*（1981）は後期対数増殖期の植物プランクトンの C/N 比は6程度と報告している。一方，底層における全植物色素当りのクロロフィル *a* 比は，表層に比べて若干低いものの70～80%であり，SAIJO *et al.*（1969）が黒潮域表層で報告している60～80%と一致しているが，クロロフィル極大層での値（30～50%）よりもかなり高い。以上の結果は，周防灘では底層付近にも増殖中の植物プランクトンが在存す

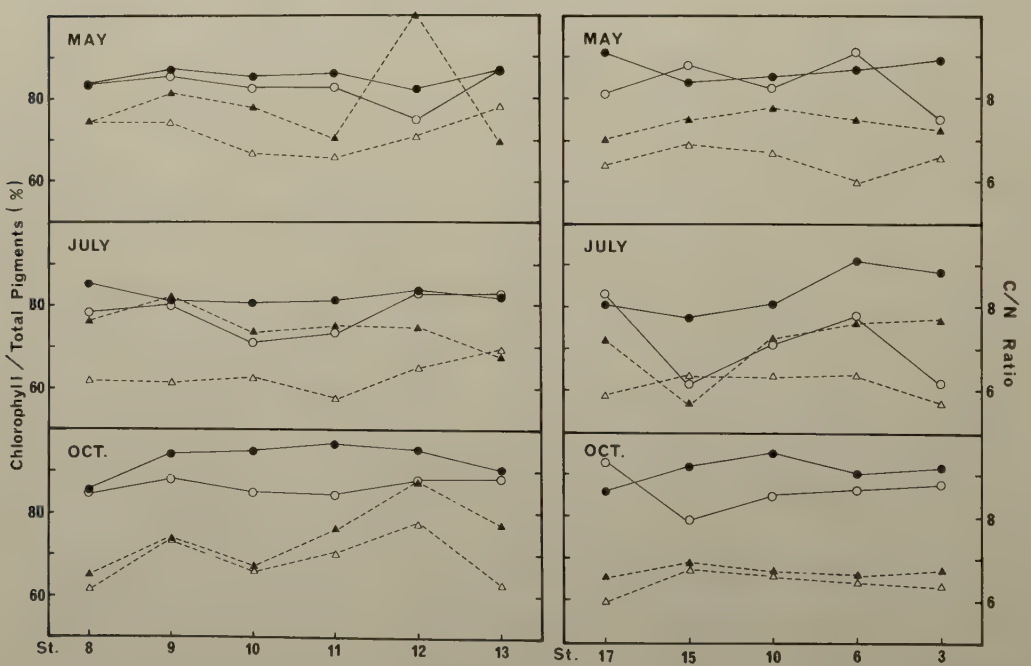


Fig. 9 North-south (left) and east-west (right) variations of C/N ratio and percentage of chlorophyll-*a* to total pigments (chlorophyll-*a*+pheopigments) at the surface and bottom layers in Suō-Nada in May, July and October, 1983.
Solid lines: percentage of chlorophyll-a. dashed lines: C/N ratio.
Solid circles: surface layer, open circles: bottom layer.
Solid triangles: surface layer, open triangles: bottom layer.

ることを示唆するものである。したがって，成層期の底層におけるクロロフィル極大は，植物プランクトンの沈降集積よりも，底泥からの栄養塩の補給と水深の割に透明度が高いことによる光条件とに支えられた，植物プランクトンの増殖の結果形成されたと考えられる。しかし，基礎生産は1983年7月の St. 17 では比較的高いものの，St. 11 ではほとんど0であり，また低照度下におけるクロロフィル分解速度の減少（Saijo *et al.* 1969）や，植物プランクトン死細胞上での細菌の増殖による C/N 比の低下（Fukami *et al.* 1981）等の報告もあり，底層におけるクロロフィル極大の成因については，今後更に検討する必要があろう。

植物プランクトン現存量の計算には，有光層以深のクロロフィル *a* は含まれない場合があった。植物プランクトンの生産を検討する際には，有光層以深を無視しても問題はないであろうが，動物プランクトンの餌料としては下層のものも大きな意味を持つと思われる。しかし，有光層深度が水深を上回る場合が多かったため，現存量は多少過少推定されるものの，大きな問題はないであろう。クロロフィル *a* および炭素量に換算した植物プランクトン現存量の5回の調査の総平均は，それぞれ 22.2mgChl·m^{-2}，0.89gC·m^{-2} であり，これに基づき面積を乗じて求めた周防灘全域の現存量は，炭素量で2,759トンであった（Table 1）。

^{13}C 法で測定した水柱当りの日生産量は，5月で St. の平均 0.31gC·m^{-2}·day^{-1}，7月で0.45gC·m^{-2}·day^{-1} であった。この値はこれまで瀬戸内海で報告された^{14}C 法による値，燧灘の暖月平均0.42（Endo and Okaichi 1977）や瀬戸内海全域の 0.12～0.95gC·m^{-2}·day^{-1}（遠藤1970）とほぼ一致した。外洋域においては Saijo aud Ichimura（1960）が黒潮域で0.05～0.1gC·m^{-2}·day^{-1}，親潮域で0.2～0.4gC·m^{-2}·day^{-1} という値を報告しているが，周防灘の値は親潮域にほぼ等しい。また，Ass. No. は5月で1.0～2.3，7月で4.8～11.0 mgC·$mgChl^{-1}$·h^{-1} であった。黒潮表層域の 0.3～0.7，親潮域の 3～6 mgC·$mgChl^{-1}$·h^{-1}（Saijo and Ichimura 1960）に比べると，周防灘で得られた値はかなり高く，基礎生産の効率は良いようである。2回の調査に基づく計算によれば，周防灘における年間基礎生産量は平均139gC·m^{-2}·Yr^{-1} であり（Table 2），灘全体では炭素量で年間43万トンと計算される。遠藤（1970）は瀬戸内海全域の基礎生産量を年間200万トンと見積っているが，周防灘の面積が瀬戸内海全体の 1/7 であることを考慮すると，本研究で得られた値は瀬戸内海の平均を若干上回っている。

なお，漁業生産との関係をみるため遠藤（1970）に従い基礎生産量（湿重量）を求めると430万トンとなる。多々良（1981）は同海域において漁業を通して利用された基礎生産量が1975年以降280万トン前後であると推定しており，これは本研究で求めた基礎生産量の65％にあたる。また科学技術庁振興調整費「海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究」第Ⅰ期総合報告書：瀬戸内海水域（科学技術庁，印刷中）によれば，1963—81年の周防灘の年平均漁獲量53,000トンによって消費された植物プランクトンの推定生産量は268万トンで，炭素量に換算すると16万トンとされている。同報告によればこの水域では，漁獲物の30～50％が投棄されると見積られているので，今回測定した基礎生産量の70％程度が漁業により消費されると推定される。したがって基礎生産の大部分が漁業生産により利用されていることになり，周防灘における漁業による基礎生産利用効率の高さがうかがえる。しかし，海域の基礎生産と漁業によるその利用との関係を

詳細に論議するには，現状では双方とも基礎情報が十分とは言えず，今後の研究の進展を待つ必要がある。

摘　　要

周防灘における植物プランクトン現存量と基礎生産量を把握するため，1982—83年にかけてクロロフィル *a* の測定および^{13}Cトレーサー法による現場吊下げ実験を実施して下記の知見を得た。

(1)周防灘におけるクロロフィル *a* は0.15～8.76mg・m^{-3}の範囲にあり，平均では1.54mg・m^{-3}と他の内湾域に比べると低い値であった。

(2)クロロフィル *a* の水平分布は一般に灘西部で高く東部にゆくほど低くなる傾向が認められた。鉛直的には成層期の底層付近にクロロフィル極大が認められたが，これは老化した植物プランクトンの沈降集積によるよりも，底層付近での植物プランクトンの増殖による可能性が高いことが示唆された。

(3)平均クロロフィル *a* 濃度と透明度との間には，外洋で報告されているように負の相関が認められたが，沿岸域においては透明度の変動に植物プランクトン以外の懸濁物が関与していることが認められた。

(4)水柱当りの基礎生産量は，1983年5月に平均0.31，同7月に0.45gC・m^{-2}・day^{-1}であり，これまでに瀬戸内海で報告されている値とほぼ一致した。また，単位クロロフィル当りの基礎生産速度は5月に1.0～2.3，7月に4.8～11.0 mgC・$mgChl^{-1}$・h^{-1}と外洋域に比べて高く，基礎生産の効率の良さがうかがえた。

(5)周防灘全域における植物プランクトン現存量は，炭素量に換算して2,759トンであり，また同海域における年間の基礎生産量は139 gC・m^{-2}・Yr^{-1}で，灘全体では炭素として年間に43万トンが生産されると推定された。

引　用　文　献

岩崎英雄，1983：沿岸域保全のための海の環境科学．平野敏行編，恒星社厚生閣，東京，570pp.

遠藤拓郎，1970：瀬戸内海の一次生産に関する研究．広大水畜産学部紀要，9，177–221.

Endo, T. and T. Okaichi, 1977: *In* "Productivity of Biocenoses in coastal regions of Japan. JIBP SYNTHESIS, vol. 14". *eds.* Hogetsu, K. *et al.*, Univ. Tokyo press, 394pp.

科学技術庁：海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究．第1期総合報告書：瀬戸内海水域．（印刷中）.

藤本敏昭・渡辺昭二・寺田和夫，1979：周防灘西部の海況（5年間のとりまとめ）．福岡豊前水試研究業務報告，昭和52年度，73–94.

Fukami, K., U. Shimidu and N. Taga, 1981: Fluctuation of the communities of heterotrophic bacteria during the decomposition process of phytoplankton. J. exp. mar. Biol. Ecol., 55, 171–184.

Hama, T., T. Miyazaki, Y. Ogawa, T. Iwakuma, M. Takahashi, A. Otsuki and S. Ichimura, 1983: Measurement of photosynthetic production of marine phytoplankton population by using a stable ^{13}C isotope. Mar. Biol., **73**, 31–36.

市村俊英・小林弘, **1964**：東京湾の基礎生産に関する調査報告. 日本プランクトン研連会報, **11**, 6–8.

松平康雄, **1964**：日本沿岸水域基礎生産力総合研究結果. 日本プランクトン研連会報, **11**, 24–73.

村上彰男, **1976**：瀬戸内海の海域生態と漁業. フジ・テクノシステム, 東京, 415pp.

Riley, G. A., 1965: A mathematical model of regional variations in plankton. Limnol. Oceanogr. Suppl., **10**, R202–R215.

Saijo, Y. and S. Ichimura, 1960: Primary production in the Northwestern Pacific Ocean. J. Oceanogr. Soc. Japan, **16**, 139–145.

Saijo, Y., S. Iizuka and O. Asaoka, 1969: Chlorophyll maxima in kuroshio and adjacent areas. Mar. Biol., **4**, 186–196.

西条八束, **1975**：クロロフィルの測定法. 日本陸水学会誌, **36**, 103–109.

Slawyk, G., Y. Collos and J. C. Auclair, 1977: The use of the ^{13}C and ^{15}N isotopes for the simultaneous measurement of carbon and nitrogen turnover rates in marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., **22**, 925–932.

Slawyk, G., Y. Collos and J. C. Auclair, 1979: Reply to comment by Fisher et al. Limnol. Oceanogr., **24**, 695–597.

Slawyk, G. and Y. Collos, 1982: ^{13}C and ^{15}N uptake by marine phytoplankton: Ⅱ Results from a tropical area (Guinea Dome). Rapp. p. —v. Reun. Cons. int. Explor. Mer., **180**, 209–213.

Steemann Nielsen, E., 1952: The use of radio-active carbon (^{14}C) for measuring organic production in the sea. J. Cons. int. Explor. Mer., **18**, 117–140.

Steemann Nielsen, E. and V. K. Hansen, 1959: Light adaptation in marine phytoplankton and its interrelation with temperature. Physiol. Plant., **12**, 353–370.

Steele, J. H. and C. S. Yentsch, 1960: The vertical distribution of chlorophyll. J. mar. biol. Ass. U. K., **39**, 217–226.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons, 1968: A practical handbook of seawater analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Canada, No. 167, 311pp.

多々良薫, **1981**：基礎生産と漁獲量との関係, —漁業による基礎生産の利用—. (瀬戸内海におけるモデル計算), (綜述). 南西水研報, (13), 111–133.

米康夫・竹下貢二・田中於菟彦・富山哲夫, **1964**：福岡湾の基礎生産. 日本プランクトン研連会報, **11**, 9–11.

吉岡貞範, **1983**：山口県周防灘および沿岸海域の海況について. 山口内海水試報, **11**, 50–67.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No 17, 1984

Predation by Sagitta on Larval Fish in Earthen Pond

Osamu Fukuhara and Tatsuhiro Fukunaga

素堀池におけるヤムシによる仔魚の捕食

福原　修・福永　辰広

Observations of predation by *Sagitta* on larval red sea bream, *Pagrus major* were carried out in an earthen pond. The specimens of *Sagitta* were collected quickly by hand-net from the culture pond to avoid predation during sampling procedure.

The *Sagitta* was identified as *Sagitta crassa* Tokioka. The phenomenal fact of feeding may be interpreted as indicating the possibility that *Sagitta* attacked or preyed on the dead larvae in the natural conditions.

Mortality of fish larvae by plankton is a widespread phenomenon, and copepods and chaetognaths are well known as common predators (Lillelund and Lasker, 1971; Nagasawa and Marumo 1976; Bailey and Yen, 1983; Blaxter and Hunter, 1983). Feeding behaviour of *Sagitta* has been investigated mostly in the laboratory conditions (Reeve, 1964; Fraser, 1969; Kuhlmann, 1976 ; Feigenbaum and Reeve, 1977), rare for observations in the natural conditions. In this paper, we describe the predation by *Sagitta* on larval fish in the natural conditions, and discuss briefly the difference of feeding behaviours between in the laboratory and in the wild

Materials and Methods

A pond of 15,750m^3, measuring 170×45×2m was used to raise larval red sea bream, *Pagrus major*. Water in the pond was introduced from the sea through a water gate screened to supply food organisms, therefore smaller animals were also transffered with the water column into the pond. Patches of the larval fish and copepods were often occurred during a rearing season of May (W.T.; 24°-27°C). Accidentally *Sagitta* was also seen in the patches, and seemed to prey on the larval fish and copepods. The chaetognaths which were in the upper layer of the pond were collected quickly by hand-net, then immediately preserved in 10% formalin solution to avoid the predation during the sampling

Received: June 15, 1984. Contribution No. 144 from the Nansei Regional Fisheries Research Laboratory, Ohno-cho, Hiroshima-ken, 739-04, Japan

procedures.

Results and Discussion

Collected specimens shown in Fig. 1 were identified as *Sagitta crassa* TOKIOKA by Dr. S. NAGASAWA. In the laboratory experiment, *Sagitta* bited the central portion of the trunk, and digested them as a round oval mass in which the pair of eyes were seen in the cephalic past (KUHLMANN, 1976), but all larvae found in the intestine of the *Sagitta* were digested from the caudal portion in the present observation (Fig. 1-a, b). *Sagitta* usually showed no response against moveless prey such as eggs and dead one, and weak response for yolk sac larvae (KUHLMANN, 1976; BAILEY and YEN, 1983). Swimming activities, especially on tail beating were needed to recognize and locate their food (LILLELUND and LASKER, 1971).

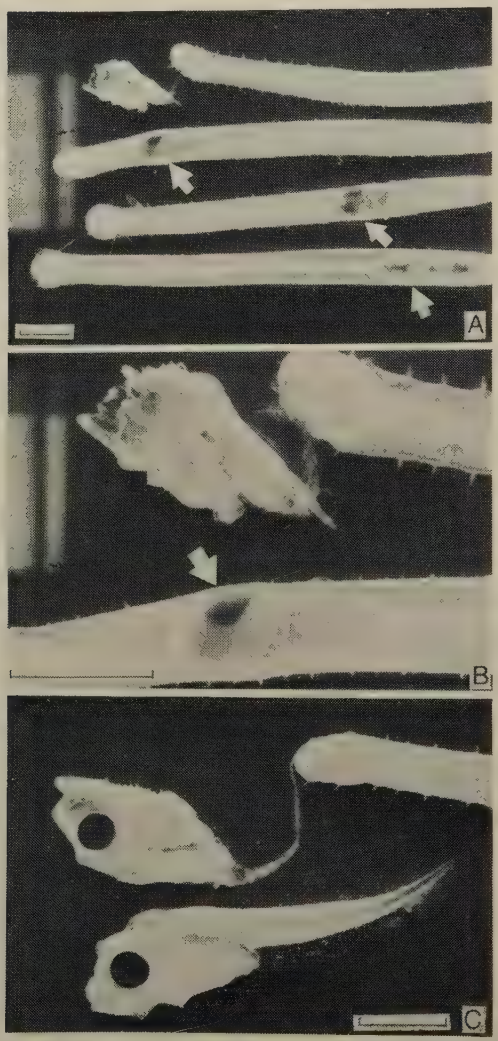


Fig. 1. Larval red sea bream bited and digested (arrows) by *Sagitta crassa* ranging 12.7 to 13.5 mm. A, dead larva bited and larvae with pigmented eyes digested; B, close-up of dead larva catched and larva shallowed; C, larvae with well pigmented eyes was digested at the posterior portion of body. Uncaptured larva is 4.7 mm SL in size. Scales denote 1.0 mm.

Some specimens obtained indicates that they attack the dead larva which was fairly disintegrated as shown in Fig. 1-a, b as well as living one (Fig. 1, c). Fish larvae of both specimens were connected fast with the grasping spines of *Sagitta*, and posterior portion of the larvae shaped slender, seeming to be digested. As mentioned before there were no opportunity for the *Sagitta* to catch the larvae during sampling procedures Therefore, the fact may be interpreted as indicating the possibility that *Sagitta* attacked or preyed on the dead animals in the natural conditions.

Acknowledgements

We wish to thank Dr. S. NAGASAWA for her taxonomical identification of *Sagitta*. Thanks also due to Dr. D. KUHLMANN for his useful comments.

References

BAILEY, K. M. and J. YEN. 1983: Predation by a carnivorous marine copepod, *Euchaeta elongata* Esterly, on eggs and larvae of the pacific hake, *Merluccius productus*. J. Plankton Res., 5(1),71-82.

BLAXTER, J. H. S. and J. R. HUNTER. 1982: The biology of the clupeoid fishes. In "Advances in Marine Biology. 20" ed. J. H. S. BLAXTER, F. S. RUSSELL et M. YONGE, Academic Press, London & New York, 398 P.

FEIGENBAUM, D. and M. R. REEVE. 1977: Prey detection in the Chaetognatha: response to a vibrating probe and experimental determination of attack distance in large aquaria. Limno. Ocean., 22(6), 1052-1057.

FRASER, J. H. 1969: Experimental feeding of some Medusae and Chaetognatha. J. Fish. Res. Bd. Can., 26(7), 1743-1762.

KUHLMANN, D. 1976: Laboratory studies on the feeding behaviour of the chaetognaths *Sagitta setosa* J. Müller and *S. elegans* Verril with special reference to fish eggs and larvae as food organisms. Meeresforschung, 25, 164-171.

LILLELUND, K. and R. LASKER. 1971: Laboratory studies of predation by marine copepods on fish larvae. Fish. Bull., 69(3), 655-667.

NAGASAWA, S. and R. MARUMO 1976: Further studies on the feeding habits of *Sagitta nagae* Alvariño in Suruga bay, central Japan. J. Ocean. Soc. Japan, 31, 209-218.

REEVE, M. R. 1964: Feeding of zooplankton, with special reference to some experiments with *Sagitta*. Nature, 201(4915), 211-213.

粗放的な方式でマダイ種苗が生産されている素堀池においてヤムシが仔魚を捕食している現象を観察した。

ヤムシは *Sagitta crassa* TOKIOKA と同定された。捕食されたマダイは後期仔魚で，一部腐食した個体がありヤムシは動きのない餌生物には摂食行動を示さないとされる室内実験の結果と比較すると，自然条件に近い状態では *Sagitta* が死亡した餌料にも摂食行動を示す可能性があることを示唆している。

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

The Occurrence of Deformed Larva of Anchovy (*Engraulis japonica*) Reared in the Tank

Osamu FUKUHARA

飼育したカタクチイワシ仔魚の一奇形

福原　修

The symptom of deformation of *Engraulis japonica* was described on the specimen reared in the laboratory conditions. The deformity of specimen resulted from the failure of the caudal fin formation or the amputation of the caudal portion in early stage from the morphological observations.

The malformation of fishes in the wild and under artificial rearing conditions is well known (e.g. TAKASHIMA et al., 1976; FUKUHARA, 1977; TAKASHIMA, 1977; PAPERNA, 1978; KOMADA, 1980; BARAHONA-FERNANDES, 1982). Most reports have focused on fingerlings and adults where abnormalities have been attributed to deformities of the vertebrae. In a 1982 experiment to artificially reared anchovy, *Engraulis japonica* one anmalous larva was found in the specimens collected from the rearing tank. The symptoms of the deformed specimen shall be described briefly as no descriptions have been made previously.

Materials and Methods

The specimen used for the morphological observation was collected from a rearing tank capaciting 500 *l*. The rearing techniques and environmental conditions were described in detail by FUKUHARA (1983). The collected larva was preserved in 5% nonbuffered formalin solution (30‰S sea water), and inspected morphologically under dissecting microscope, comparing with a normal specimen.

Results and discussion

The deformed larva and a normal larva are shown in Figs 1 and 2. Both larvae were hatched in a 500 *l* tank and were 20 days old when collected. The deformed specimen

Received: June 15, 1984. Contribution No. 145 from the Nansei Regional Fisheries Research Laboratory, Ohno-cho, Hiroshima-ken, 739-04, Japan

exhibited an indentation just behind the anus. Posterior to the indentation a fin with rays was formed. Rays in the upper lobe of the fin were segmented and a few melanophores were seen in the fin membrane. Rays in the lower lobe were unsegmented with no pigmentation. The anal fin of the normal specimen was also unsegmented but the caudal fin was segmented. The lower lobe of the caudal fin was pigmented.

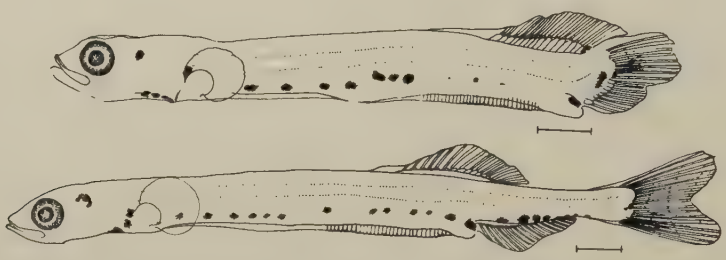


Fig. 1. Deformed and normal larva of *Engraulis japonica* grown in a rearing tank. Scales denote 1.0 mm.

Fig. 2. Photographs of deformed and normal anchovy larvae. a, full view of deformed specimen; b, close-up of the posterior section of the deformed specimen; c, full view of a normal specimen.

These findings suggest that the fin formed behind the anus of the deformed specimen is composed of the anal and caudal fins. The deformity of the anchovy larva resulted from

the failure of the caudal fin to develop normally of the amputation of the caudal portion. The larva probably survived since there was no damage to the intestine.

Acknowledgements

I would like to thank Mr. THOMAS B. MCCORMICK III for his critical reading of the manuscript.

References

BARAHONE-FERNANDES, M. H. 1982: Body deformation in hatchery reared European sea bass *Dicentrachus labrax* (L). types, prevalence and effect on fish survival. J. Fish Biol., 21, 239-249, figs. 1-28.

FUKUHARA, O. 1977: On the skeletal abnormalities of reared red sea bream. The Aquiculture, **25**(2), 41-45.

FUKUHARA, O. 1983: Development and growth of laboratory reared *Engraulis japonica* (Houttuyn) larvae. J. Fish Biol., **23**(6), 641-652.

KOMADA, N. 1980: Incidence of gross malformations and vertebral anomalies of natural and hatchery *Plecoglossus altivelis*. Copeia, (1), 29-35, figs. 1-8.

PAPERNA, I. 1978: Swimbladder and skeletal deformations in hatchery bred *Sparus aurata*. J. Fish Biol., **12**(2), 109-114, Pls. 1-3.

TAKASHIMA, F., M. NOMURA and S. ISHII. 1976: Anomalies of hatchery reared Ayu, *Plecoglossus altivelis*. I. malformation of the skeletal system found in the fry. J. Tokyo Univ. Fish., **62**(2), 91-97, fig. 1, pls. 1-2.

TAKASHIMA, F. 1977: Vertebral malformation in hatchery reared red sea bream, *Chrysophrys major*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **44**(5), 435-443, fig. 1, Pls. 1-4.

室内において人工飼育したカタクチイワシ仔魚から尾部を欠損した標本を採取し，その症状を観察した。標本はふ化後20日目で，500 *l* 水槽においてシオミズツボワムシを与え飼育されたものである。症状は尾部が欠損し，肛門直後に背鰭につながる鰭が形成されている。鰭の上葉は鰭条が分節し黒色素胞を有するが，その下葉は分節せず，黒色素胞も有しない。正常個体との形態学的比較から形成された鰭は尾鰭と臀鰭から形成されていると考えられた。また，その原因は発生過程での異常かあるいは仔魚期における尾部切断によると考えられる。消化管部分が正常なため生残できたと思われる。

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

伊予灘産メイタガレイの系統群の再検討

正木　康昭・伊東　弘

Re-examination of the Identification of Stock Units of Finespotted Flounder, *Pleuronichthys cornutus* (Temminck *et* Schlegel) in the Sea of Iyo.

Yasuaki Masaki and Hiroshi Ito

The separation of finespotted flounder, *Pleuronichthys cornutus* (Temminck *et* Schlegel) in the Sea of Iyo into stock units has been tried by use of statistical significance for ambicoloration rate, number of vertebrae, number of soft rays, relative growth of various parts of fish body and relationship between body length and body weight.

It was concluded that finespotted flounder in the Sea of Iyo can be separated into two stock units, and each of the stock units distributes in water divided by the border line of 132°E.

Further, two stock units inhabited in the Sea of Suō were identified. One is in the waters south of 33° 45′N, another is north of 33° 50′N.

正木・伊東（1984）は瀬戸内海西部海域におけるメイタガレイの系統群の分離を試みた。その報告の中で，伊予灘に分布するメイタガレイが独立した系統群であると結論するには問題があることを指摘している。瀬戸内海西部海域に属する伊予灘は残る周防灘，安芸灘および広島湾の全ての海域と境を接している。それゆえ，伊予灘に分布するメイタガレイの系統について検討し，さらに，周防灘の中で未調査水域として残っている大分県長洲沿岸沖合に分布する本種の資源と山口県沿岸沖合資源あるいは大分県国東半島沖合資源との関係を明らかにすることによって，瀬戸内海西部海域におけるメイタガレイの資源研究を発展させることができると考える。

稿を進めるに先だち，南西海区水産研究所内海資源部長尾形哲男氏には校閲の労をたまわったことに深く感謝する。また，メイタガレイ標本の入手に際しては大分県浅海漁業試験場動物科長上城義信氏および愛媛県水産試験場東予分場武田晃一氏に多大の御協力をたまわったことを記して，ここに謝意を表したい。

材料および方法

本研究で用いた材料は Fig. 1 に示した海域において採集したものである。大分県長洲沖合海

1984年6月18日受理，南西海区水産研究所業績第146号，〒739—04，広島県佐伯郡大野町

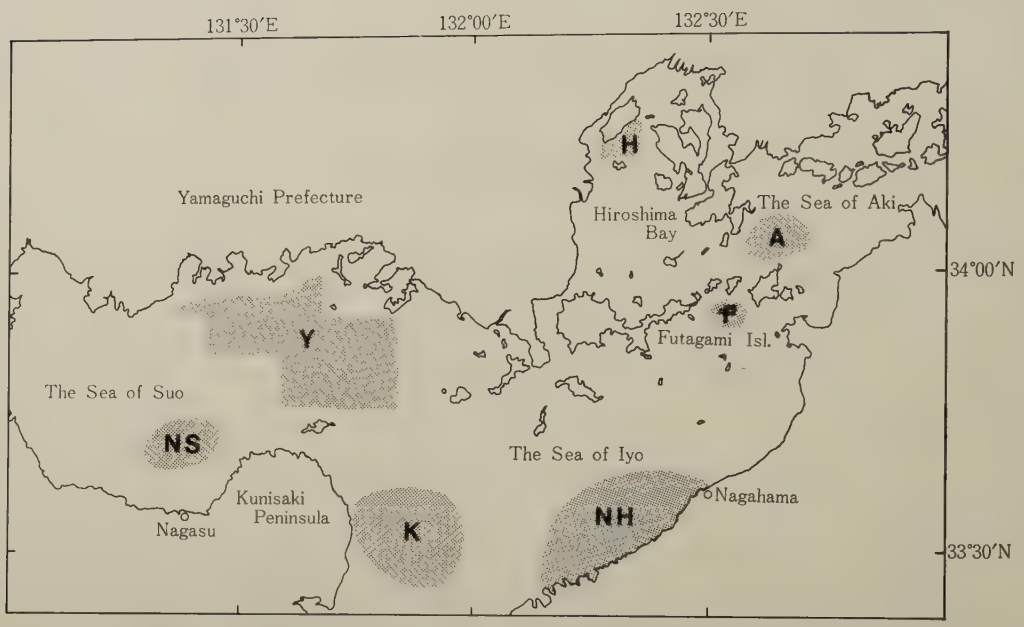


Fig. 1. Chart of Western Seto Inland Sea, showing area of finespotted flounder sampled.

域（今後は **NS** 海域と略称する）においては小型底びき網漁業によって2～10月に漁獲された459尾，伊予灘においては大分県国東半島沖合海域（**K**海域と略称する）で4～8月に，愛媛県長浜沖合海域（**NH** 海域と略称する）で4～5月に小型底びき網漁業と刺網漁業によって漁獲された555尾と339尾のメイタガレイである。

標本魚は凍結後研究室に持ち帰り計測した。計測項目は①標準体長（**S.L.**），②全長（**T.L.**），③体重（内臓を含む）（**B. W.**），④頭長（**H. L.**），⑤臀鰭後縁～尾鰭先端（**P. A.**），⑥背鰭後縁～尾鰭先端（**P. D.**），⑦吻端～臀鰭前縁（**Pr. A.**），⑧吻端～肛門中央部（**P. As.**），⑨吻端～無眼側腹鰭基部前縁（**P. V.**），⑩背鰭軟条数，⑪臀鰭軟条数，⑫尾鰭軟条数，⑬脊椎骨数，⑭無眼側体表面の有色現象の有無である。

計数的形質である⑩～⑬の項目の性別・海域別分散を**F**-検定した後，平均値の性間・海域間の差を t-検定で有意性を調べた。性間に有意差が認められなかった海域の形質については雌雄をこみにして海域間の差の有意性を検定した。

標準体長に対する計測項目②～⑨の各体部位長および体重との関係を解明し，得られた回帰式の“傾斜”と“位置”の性間および海域間の差の有意性を検定した。さらに，無眼側の体表面の有色現象を呈する割合の性間および海域間の相違の有無を検定した。

本研究で取り上げた **NS**，**K** そして **NH** 海域と比較する対象海域は正木・伊東（1984）が検討した周防灘（**Y**海域），二神島周辺海域（**F**海域），安芸灘（**A**海域）および広島湾（**H**海域）の4海域である（**Fig. 1**）。

無眼側体表面における有色出現率

Table 1 は NS, K そして NH 海域における無眼側体表面に有色現象が認められたメイタガレイの雌雄別割合を示している。3海域とも性間に有色出現率に有意な差は認められない。

Table 1. Rate of ambicolouration of finespotted flounder off the coast of Nagahama and Kunisaki Peninsula in the Sea of Iyo and off the coast of Nagasu in the Sea of Suō.

Area	Sex	No. of fishes examined	No. of ambicoloured fish	Rate of ambicolouration (%)
	Male	150	3	2.00
Nagahama (NH)	Female	189	8	4.23
	Total	339	11	3.24
	Male	148	0	0.00
Nagasu (NS)	Female	197	2	1.02
	Total	345	2	0.58
	Male	238	4	1.68
Kunisaki (K)	Female	314	12	3.82
	Total	552	16	2.90

NH 海域の有色出現率（3.24%）はA海域（4.72%）に次いで高い。K海域のそれは2.90%であり，Aと NH 海域に次いで高いが，NS 海域では0.58%にすぎず，Y海域（0.32%）に次いで低い。

Kと NH 海域はHとYの両海域間において1%有意水準で差が認められた。さらに，NS 海域と NH 海域間にも1%水準で有意な差が存在する（Table 2）。

Table 2. Results of the significance of the ambicoloration rate of finespotted flounder among areas in the Western Seto Inland Sea.

Area	Sex	A M+F	H M+F	F M+F	NH M+F	NS M+F	Y M+F
K	M+F	—	**	—	—	*	**
NS	M+F	—	—	—	**		—
NH	M+F	—	**	—			**

A: The Sea of Aki, H: Hiroshima Bay, F: Around the waters of Futagami Isl. in the Sea of Iyo, Y: Off the coast of Yamaguchi Pref. in the Sea of Suō. M+F: Sex combined, **: Significant at 1% level of significance, *: Significant at 5% level of significance, —: not singnificant.

計数的形質の差違

計数的形質として取り上げた脊椎骨数，背鰭軟条数，臀鰭軟条数および尾鰭軟条数の海域別・性別の統計量と組成を各々 Tables 3～5 と 6～8 に示した。

Table 3. Results of the test of the differences in the mean number of vertebrae, dorsal soft rays, anal soft rays and caudal soft rays between sexes of finespotted flounder off the coast of Nagahama in the Sea of Iyo.

	Male	Female	Sex combined	t_0
Vertebrae	37. 25±0. 09	37. 20±0. 07	37. 22±0. 06	0. 858
Dosal soft rays	79. 05±0. 46	79. 89±0. 46	79. 52±0. 33	2. 509*
Anal soft rays	58. 85±0. 36	59. 26±0. 36	59. 10±0. 26	1. 849
Caudal soft rays	18. 94±0. 06	19. 03±0. 05	18. 99±0. 02	2. 029*

*: significant at 5% level of significance, t_0: value of t observed

Table 4. Results of the test of the differences of the mean number of vertebrae, dorsal soft rays, anal soft rays and caudal soft rays between sexes of finespotted flounder off the Kunisaki Peninsula in the Sea of Iyo.

	Male	Female	Sex combined	t_0
Vertebrae	37. 35±0. 10	37. 33±0. 08	37. 34±0. 07	0. 247
Dorsal soft rays	78. 38±0. 51	79. 27±0. 37	78. 96±0. 30	2. 530*
Anal soft rays	58. 65±0. 37	59. 21±0. 28	59. 01±0. 23	2. 338*
Caudal soft rays	19. 01±0. 04	18. 96±0. 04	18. 98±0. 03	1. 298

Abbreviations are the same as Table 3.

Table 5. Results of the test of the differences of the mean number of vertebrae, dorsal soft rays, anal soft rays and caudal soft rays between sexes of finespotted flounder off the coast of Nagasu in the Sea of Suō.

	Male	Female	Sex combined	t_0
Vertebrae	37. 14±0. 09	37. 18±0. 07	37. 29±0. 05	0. 705
Dorsal soft rays	78. 70±0. 49	78. 98±0. 40	78. 87±0. 31	0. 884
Anal soft rays	58. 29±0. 37	58. 80±0. 30	58. 65±0. 23	2. 490*
Caudal soft rays	18. 99±0. 04	18. 99±0. 03	18. 99±0. 03	0. 090

Abbreviations are the same as Table 3.

Table 6. Results of the counting of vertebrae and soft rays of each fin of finespotted flounder off the Kunisaki Peninsula in the Sea of Iyo.

No. of vertebrae	M	F	To.
36	6	23	29
37	70	116	186
38	50	96	146
39		3	3
To.	126	238	364

No. of dorsal soft rays	M	F	To.
69		1	1
70			
71	1		1
72	2		2
73	2	1	3
74	2	8	10
75	9	7	16
76	14	14	28
77	16	30	46
78	13	31	44
79	21	25	46
80	15	40	55
81	10	24	34
82	2	17	19
83	7	10	17
84	1	7	8
85	1	5	6
86	2	2	4
87			
88		1	1
89		1	1
To.	118	224	342

No. of anal soft rays	M	F	To.
53	1	1	2
54	3	2	5
55	1	6	7
56	10	13	23
57	17	27	44
58	26	24	50
59	27	57	84
60	17	33	50
61	6	27	33
62	6	20	26
63	4	6	10
64	2	4	6
65		1	1
66		1	1
To.	120	222	342

No. of caudal soft rays	M	F	To.
16		1	1
17			
18	3	9	12
19	113	212	325
20	4	2	6
21		1	1
To.	120	225	345

Table 7. Results of the counting of vertebrae and soft rays of each fin of finespotted flounder off the coast of Nagahama in the Sea of Iyo.

No. of vertebrae	M	F	To.
36	9	8	17
37	94	134	228
38	46	46	92
To.	149	188	337

No. of dorsal soft rays	M	F	To.
68		1	1
69	1		1
70			
71			
72	1	1	2
73		2	2
74	5	8	13
75	12	4	16
76	11	10	21
77	10	15	25
78	23	15	38
79	15	24	39
80	23	24	47
81	14	25	39
82	20	21	41
83	9	16	25
84	2	9	11
85		7	7
86	1	2	3
87		2	2
88	1	1	2
To.	148	187	335

No. of anal soft rays	M	F	To.
51		1	1
52		2	2
53	1	1	2
54	3	2	5
55	6	2	8
56	8	17	25
57	22	16	38
58	28	26	54
59	27	33	60
60	22	30	52
61	17	21	38
62	8	20	28
63	3	8	11
64	3	7	10
65	2	2	4
To.	150	188	338

No. of caudal soft rays	M	F	To.
16	1		1
17	2	1	3
18	5	7	12
19	139	164	303
20	3	14	17
To.	150	186	336

M: male, F: female, To.: sex combined.

Table 8. Results of the counting of vertebrae and soft rays of each fin of finespotted flounder off the coast of Nagasu in the Sea of Suō.

No. of vertebrae	M	F	To.
36	11	9	20
37	94	135	229
38	27	42	69
39	1	0	1
To.	133	186	319

No. of dorsal soft rays	M	F	To.
70		1	1
71	2		2
72	2	1	3
73	1	2	3
74	6	2	8
75	6	11	17
76	10	12	22
77	9	23	32
78	22	28	50
79	20	29	49
80	18	27	45
81	14	15	29
82	9	11	20
83	5	11	20
84	3	4	7
85	1	2	3
86	1	2	3
87			
88		1	1
To.	129	182	311

No. of anal soft rays	M	F	To.
53	2	1	3
54	2	1	3
55	8	5	13
56	13	13	26
57	19	24	43
58	27	39	66
59	25	35	60
60	12	29	41
61	12	18	30
62	6	10	16
63	2	4	6
64	1	3	4
65		2	2
To.	129	184	313

No. of caudal soft rays	M	F	To.
18	4	5	9
19	121	175	296
20	3	4	7
To.	128	184	312

1. 脊椎骨数

KとNS両海域のメイタガレイの脊椎骨数の変異範囲は36～39個，そして，NH海域では36～38個で（Tables 6～8），正木・伊東（1984）が報告しているY，F，Hそして A 海域の変異範囲よりも狭い。

脊椎骨数組成のモードは全ての海域において37個であるが，K海域の平均脊椎骨数が最も多く（37.34個），次いでNS海域（37.29個）である。NH海域のそれは37.22個であり，Y海域の雌雄合計の37.26個に次いで多い。

K，NSそしてNH海域の各々において性間の平均脊椎骨数に有意差は認められないので（Table 3～5），雌雄をこみにして海域間の差の有意性を検定した。

Table 9. Results of the test of significance of the differences of the mean number of vertebrae of finespotted flounder in the Western Seto Inland Sea.

Area	Sex	A M+F	H M+F	F M+F	NH M+F	NS M+F	Y M	Y F
Kunisaki (K)	M+F	**	**	**	**	**	—	*
Nagasu (NS)	M+F	—	**	—	—		**	—
Nagahama (NH)	M+F	**	**	—			*	—

Abbreviations are the same as Table 2.

K海域は A, H, F, NH そして NS 海域との間に1％有意水準で差が存在する。NS 海域は H, K海域とY海域の雄との間に，そして，NH 海域は A, K と H 海域との間に有意な差が認められた（Table 9）。

2. 背鰭軟条数

K, NS そして NH 海域の背鰭軟条数組成は Tables 6～8 に示したが，各海域の背鰭軟条数の変異範囲は各々69～89，70～88そして68～88条であり，最大の変異範囲を示しているのは NH, KおよびH海域（68～88条）である。NS 海域のそれは，正木・伊東（1984）の結果と比較すると，Y（71～87条），F（73～87条）そしてA（73～85条）の3つの海域のいずれの変異範囲よりも大きい。

Tables 3～5 に示したが，K と NH 両海域においては5％有意水準で平均背鰭軟条数に性間の差が認められた。

海域間の平均背鰭軟条数の差の検定結果を Table 10 に示したが，K海域の雄とF海域，そして NS 海域と NH 海域の雌との間に1％水準で有意差が認められた。

Table 10. Results of the differences of the mean number of dorsal soft rays of finespotted flounder in the Western Seto Inland Sea.

Area	Sex	A M+F	H M	H F	F M+F	NH M	NH F	NS M+F	Y M	Y F
K	M	*	—		**	—		—	—	
K	F	—		—	—		*	—		—
NS	M+F	—	*	*	—	—	**		—	*
NH	M	—	*		—				—	
NH	F	*		—	—				—	—

Abbreviations are the same as Table 2.

3. 臀鰭軟条数

K, NS そして NH の3海域におけるメイタガレイの臀鰭軟条数組成（Tables 6～8）と正木・伊東（1984）の結果とを比較すると，臀鰭軟条数の変異範囲は K, NS そして NH 海域の各

Table 11. Resuults of the differences of the mean number of anal soft rays of finespotted flounder in the Western Seto Inland Sea.

Area	Sex	A M	A F	H M+F	F M+F	NH M+F	NS M+F	Y M+F
K	M	—		—	—	—	—	—
K	F		—	**	—	—	—	—
NS	M	—		—	*	**		*
NS	F		**	—	—	—		—
NH	M+F	—	*	**	—			—

Abbreviations are the same as Table 2.

々において53～66，53～65および51～65条であり，これらの海域の変異範囲はY海域よりも大きいが，A，H そしてF海域よりは小さい。

NS 海域の雌とA海域の雌，K海域の雌と NH 海域は各々H海域と，そして NS 海域の雄と NH 海域との間で各々1％有意水準で差が認められた（Table 11）。

4．尾腎軟条数

K，NS そして NH 海域における平均尾鰭軟条数と尾鰭軟条数組成は各々 Tables 3～5 と Tables 6～8 に示した。全ての海域において尾鰭軟条数組成のモードは19条にみられるが，NHとK海域における尾鰭軟条数の変異範囲は各々16～20，16～21条であり，F海域の16～20条と共に，その変異範囲は大きい。

Table 12 に海域間の平均尾鰭軟条数の差の有意性の検定結果を示した。K，と NS 海域はA海域と，さらに NH 海域の雄はAとH海域との間において1％水準で有意差が認められた。

Table 12. Results of the differences of the mean number of caudal soft rays of finespotted flouder in the Western Seto Inland Sea.

Area	Sex	A M+F	H M+F	F M+F	NH M	NH F	NS M+F	Y M+F
K	M+F	**	*	—	—	—	—	—
NS	M+F	**	—	—	—	—	—	—
NH	M	**	**	—				—
NH	F	*	—	—				—

Abbreviations are the same as Table 2.

相 対 成 長

本研究においても，正木・伊東（1984）と同様に，S. L. を基準として，T. L., H. L., P. A., P. D., Pr. A., P. V., P. As., の7か所の体部位長との関係を最小二乗法により一次回帰式を求め Tables 13～15 に示した。

S. L. に対する各部位長の一次回帰式の“傾斜”と“位置”の性間および海域間の差の有意性を正木・伊東（1984）が用いたと同様に，伊藤（1953）の方法で検定した。

1．S. L.—T. L.

NS, K, そして NH 海域における S. L.—T. L. の相関図を Fig. 2 に，雌雄間の“傾斜”と“位置”の差の検定結果を Tables 13～15 に示した。K と NH 海域において性間に1％の有意水準で差が認められた。

K と NH 両海域における S. L. 100㎜以上の個体の雄は雌よりも同一標準体長では全長が大きい。NS 海域においては性間に顕著な差はない。

Table 13. Regression estimate and results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and body weight, and partial length of fish body on standard body length between sexes of finespotted flounder off Nagahama in the Sea of Iyo.

	Male	Female	Sex combined	S	P
S.L.−T.L.	T.L.=1.226S.L.+9.423	T.L.=1.235S.L.+7.305		**	—
S.L.−H.L.	H.L.=0.204S.L.+2.081	H.L.=0.239S.L.−3.012		**	**
S.L.−P.A.	P.A.=0.305S.L.+5.509	P.A.=0.294S.L.+6.708	P.A.=0.298S.L.+6.544	—	—
S.L.−P.D.	P.D.=0.298S.L.+6.974	P.D.=0.291S.L.+7.328		—	*
S.L.−Tr.A.	Pr.A.=0.239S.L.−2.255	Rr.A.=0.269S.L.−5.538		—	**
S.L.−P.V.	P.V.=0.141S.L.+1.470	P.V.=0.153S.L.+0.594		—	**
S.L.−P.As.	P.As.=0.175S.L.+2.002	P.As.=0.201S.L.−0.794		**	**

S: slope difference of the regression, P: position difference of the regression, S.L.: standerd body length in mm, T.L.: total body length in mm, H.L.: head length in mm, P.A.: post-anal length in mm, P.D.: post-dorsal length in mm, Pr.A.: pre-anal length in mm, P.V.: pre-ventral length in mm, P.As.: pre-anus legth in mm, *: significant at 5% level, **: significant at 1% level, —: not significant.

Table 14. Regression estimate and results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and body weight, and partial length of fish body on standard body length between sexes of finespotted flounder off Nagasu in the Sea of Suō.

	Male	Female	Sex combined	S	P
S.L.−T.L.	T.L.=1.278S.L.−0.124	T.L.=1.263S.L.+1.091		—	*
S.L.−H.L.	H.L.=0.203S.L.+1.885	H.L.=0.203S.L.+1.683	H.L.=0.207S.L.+1.217	—	—
S.L.−P.A.	P.A.=0.345S.L.−1.776	P.A.=0.366S.L.−5.112		—	*
S.L.−P.D.	P.D.=0.334S.L.−0.009	P.D.=0.344S.L.−1.894	P.D.=0.342S.L.−1.536	—	—
S.L.−Pr.A.	Pr.A.=0.207S.L.+2.623	Pr.A.=0.233S.L.−0.561		*	—
S.L.−P.V.	P.V.=0.150S.L.+0.788	P.V.=0.153S.L.+0.127	P.V.=0.152S.L.+0.391	—	—
S.L.−P.As.	P.As=0.209S.L.−1.126	P.As.=0.206S.L.−0.913	P.As.=0.205S.L.−0.673	—	—

Abbreviations are the same as Table 13.

Table 15. Regression estimate and results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and body weight, and partial length of fish body on standard body length between sexes of finespotted flounder off Kunisaki Peninsulla in the Sea of Iyo.

	Male	Female	Sex combined	S	P
S.L.−T.L.	T.L.=1.274S.L.+1.084	T.L.=1.245S.L.+ 3.971		**	**
S.L.−H.L.	H.L.=0.191S.L.+3.255	H.L.=0.196S.L.+ 3.118		—	*
S.L.−P.A.	P.A.=0.304S.L.+4.474	P.A.=0.253S.L.+11.427		**	—
S.L.−P.D.	P.D.=0.280S.L.+8.164	P.D.=0.270S.L.+ 9.157		—	*
S.L.−Pr.A.	Rr.A.=0.244S.L.−3.978	Pr.A.=0.206S.L.+ 2.348		**	**
S.L.−P.V.	P.V.=0.100S.L.+6.862	P.V.=0.108S.L.+ 6.237		—	*
S.L.−P.As.	P.As.=0.140S.L.+6.954	P.As.=0.168S.L.+ 3.174		*	—

Abbreviations are the same as Table 13.

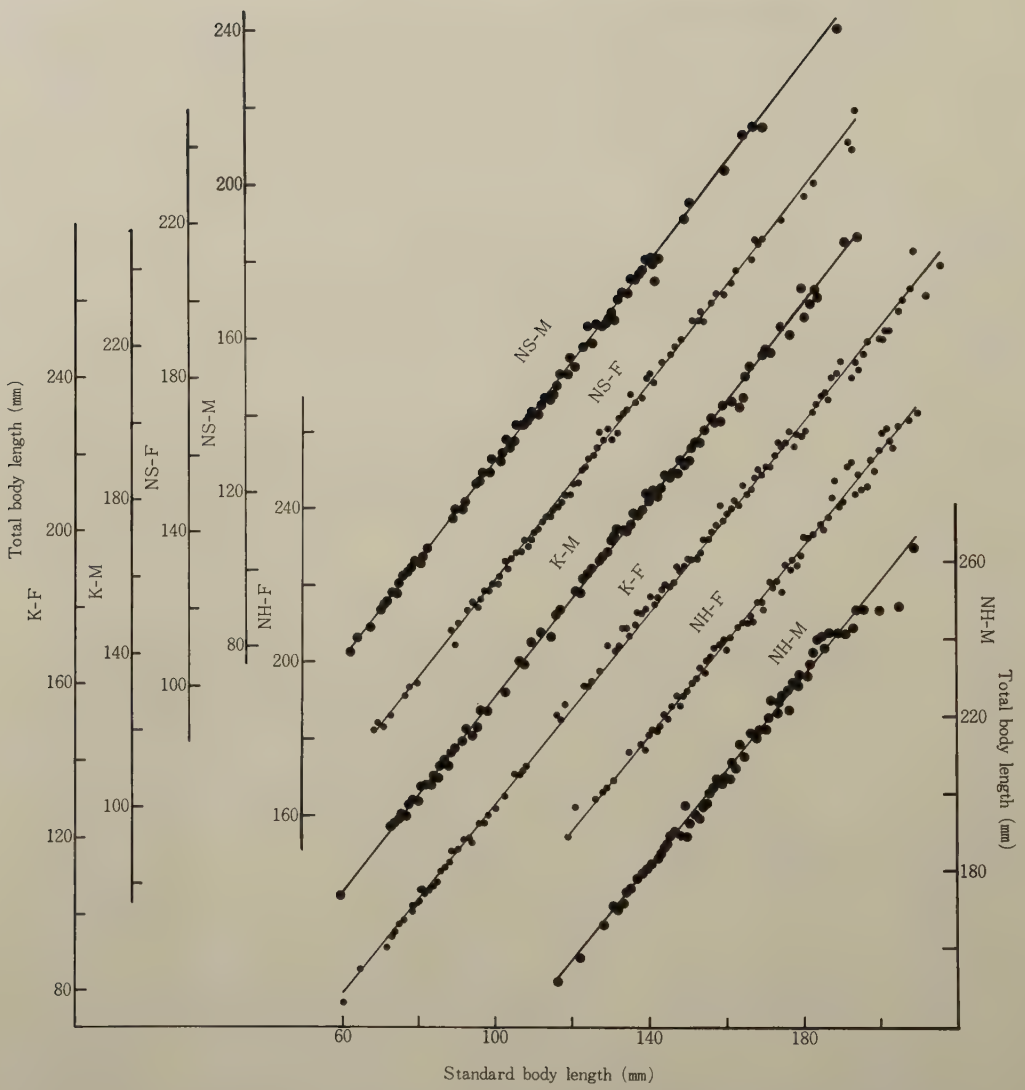


Fig. 2. Relation between standard body length and total body length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

S. L. に対する T. L. の割合は S. L. が50㎜の時にHとF海域では1.38以上であるのに対して他の海域では1.28～1.33の間にあり，顕著な相違が認められる。また，S. L. 130㎜においては，全ての海域において，S. L. に対する T. L. の割合は1.27～1.30の範囲にある。NS 海域の雄は S. L. に対する T. L. の割合は，わずかではあるが，S. L. の増加に伴って増大しつづける。しかしながら，他の海域の値は低下しつづけ，特にFとH海域では顕著である。このことは尾鰭の成長が極めて悪いか成長に伴って尾鰭先端部が欠損していくことを示唆していると考えられる。

海域間の相対成長の相違の検定結果は Table 16 に示した。K海域は A, F, NH そして NS 海域と，NS 海域は A, F, NS そしてY海域と，さらに NH 海域は A, H, Y, K そして NS

Table 16. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and total body length among areas of finespotted flounder.

Area		A		A		H		F		Y		Y		K		K		NS		NS	
Sex		M		F		M+F		M+F		M		F		M		F		M		F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	—	**			—	*	**	—	*	—							—	**		
K	F			—	**	—	—	—	*			—	—							*	—
NS	M	—	**			—	—	**	—	**	**										
NS	F			—	**	—	—	**	**			—	**								
NH	M	**	—			—	**	—	*	**	**			**	*			**	**		
NH	F			**	—	—	**	—	—			—	**			—	**			*	**

S: slope difference of the regression, P: position difference of the regression, other abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

海域との間で有意差が存在する。

2. S. L.–H. L.

NS, Kそして NH 海域における S. L.—H. L. の相関図を Fig. 3 に回帰式を Tables 13～15 に示した。NH 海域においてのみ性間に1％水準で回帰式の“傾斜”と“位置”に相違が存在

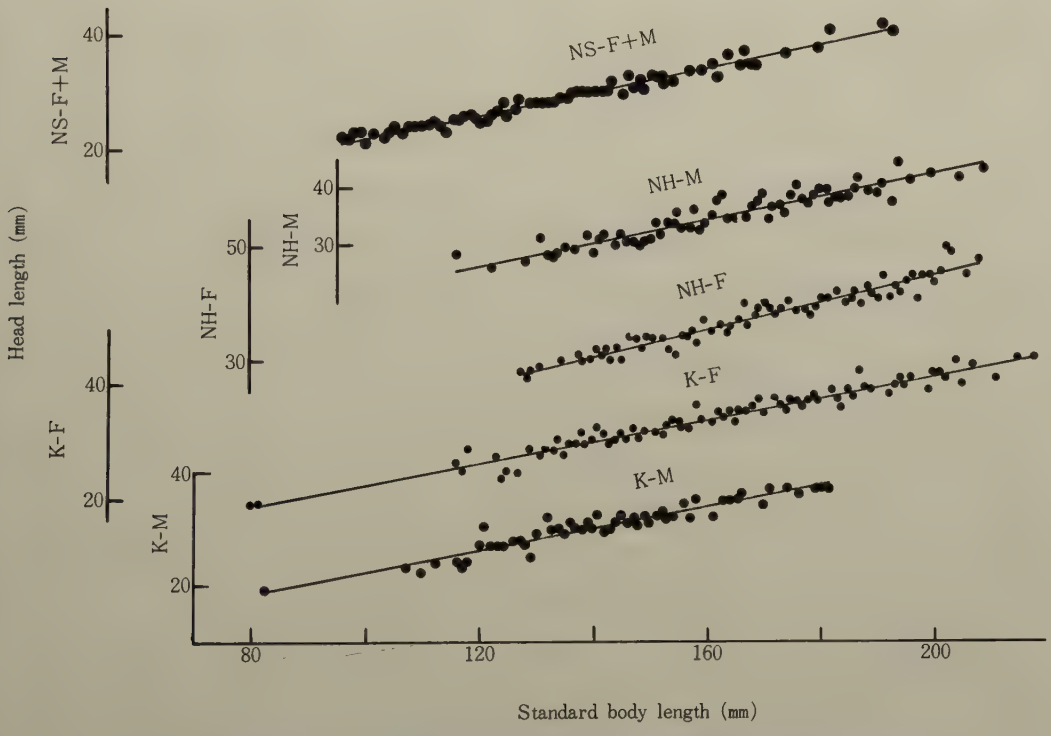


Fig. 3. Relation between standard body length and head length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

した。いずれの海域においても S. L. の増大に伴って H. L. も大きくなることを示している。特に，NH と NS 海域での H. L. の増大割合は大きく，次いでA海域そしてK海域の順となる。HとY海域ではその割合は小さい。NS, K そして NH 海域では，S. L. 60㎜における H. L. の割合は25%以下であるのに対して，A, H そしてY海域ではいずれも25%以上である。逆に，S. L. 200㎜の時の NS, K そして NH 海域における H. L. の平均割合は21.4%であるのに対してA，HそしてY海域においては21.0%と低い。

海域間の回帰式の“傾斜”と“位置”の相違の検定結果は Table 17 に示したが，K海域は A と NH 海域と，NS 海域は A, H, NH そしてY海域と，さらに NH 海域は A, H, Y, K そして NS 海域との間で有意な相違が認められた。

Table 17. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and head length among areas of finespotted flounder.

Area		A		A		H		H		Y		Y		K		K		NS	
Sex		M		F		M		F		M		F		M		F		M+F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	—	**			*	—			—	*							—	—
K	F			—	**			—	—			—	*					—	—
NS	M+F	*	**	—	**	**	—	**	**	**	**	**	**						
NH	M	—	—			**	**			**	—			—	**			—	—
NH	F			**	—			**	**			**	—			**	**	**	**

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

3. S. L.—P. A.

NS, K そして NH 海域における S. L.—P. A. の相関図を Fig. 4 に，そして Table 13～15 に回帰式を示した。S. L. に対する P. A. の増大率は NS 海域で最も高く，次いでY海域，K海域の雄，A海域，NH 海域，H海域の順となり，K海域の雌が最も低い。

S. L. 80㎜で比較すると，K海域の雌の P. A. は最も大きいが（31.7㎜），S. L. 200㎜においては最も小さくなる（62.0㎜）。逆に，NS 海域とY海域の雌の S. L. 80㎜における P. A. は最も小さいが（24.2～27.1㎜），S. L. 200㎜では最も大きい（67.2～68.1㎜）。NH とA海域では，S. L. 80㎜の時の P. A. は30.0～30.4㎜と比較的大きく，S. L. 200㎜においてもやはり相対的に大きい（66.1～66.4㎜）。H海域の S. L. 80㎜における P. A. は28.9㎜であり，K海域の雌や NH そしてA海域よりは小さいものの全ての海域の中では相対的に大きい海域の範ちゅうに入る。S. L. 200㎜で比較するとK海域の雌に次いで小さくなる（64.5㎜）。

KとY海域の雄の P. A. は S. L. 80㎜において各々28.8と28.0㎜であり，全海域の中位に位置するが，S. L. 200㎜になると P. A. は各々65.3，65.0㎜となりやや小さい範ちゅうに入る。

K海域においてのみ性間に1%水準で有意差が認められた（Tables 13～15）。

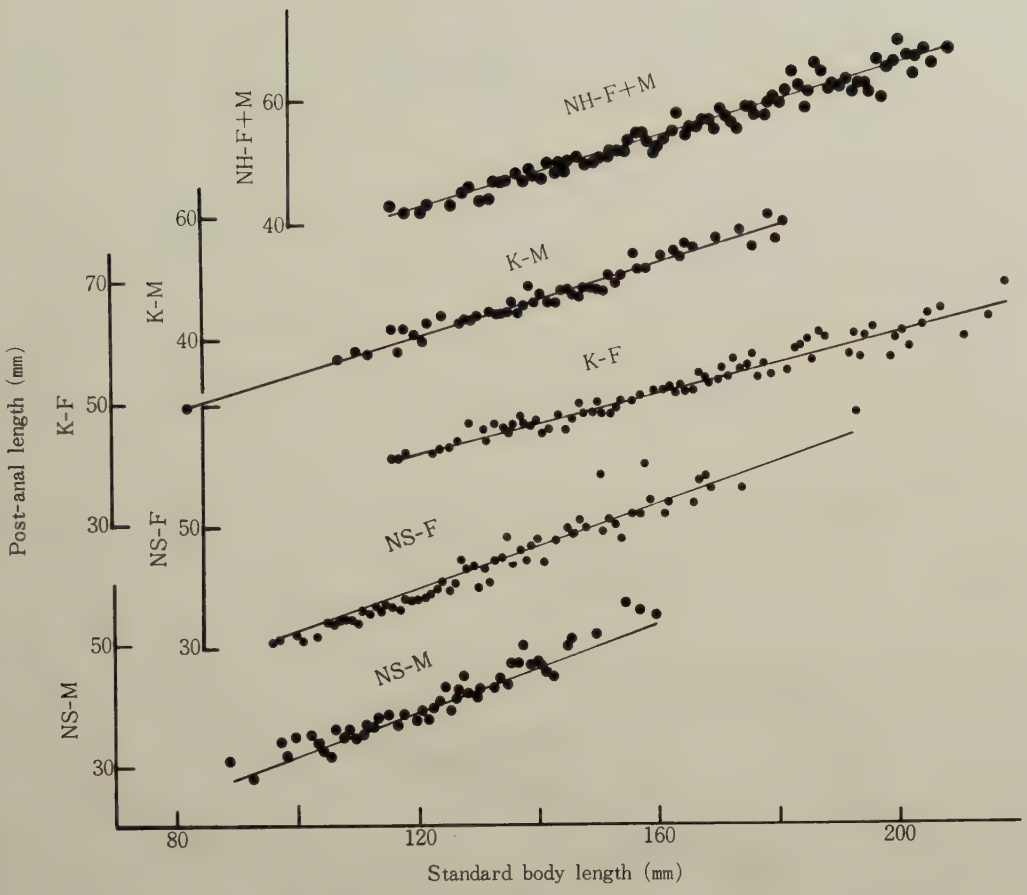


Fig. 4. Relation between standard body length and post-anal length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

Table 18. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and post-anal length among areas of finespotted flounder.

Area		A		H		Y		Y		K		K		NS		NS	
Sex		M+F		M+F		M		F		M		F		M		F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	**	**	—	—	—	—							**	*		
K	F	*	**	**	—			**	—							**	—
NS	M	**	**	**	**	*	**										
NS	F	**	**	**	**			—	**								
NH	M+F	**	—	—	**	—	**	**	**	—	**	**	**	**	**	**	**

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

海域間の相違の検定結果を Table 18 に示したが，K海域は A, H, Y, NH そして NS 海域間で，NS 海域は A, H, K そしてY海域との間で，そして NH 海域は A, H, Y, K そして NS 海域との間で各々有意な差が認められた。

4. S. L.—P. D.

S. L.—P. D. の NS, K そして NH の3海域における相関図を Fig. 5 に，回帰式を Tables 13～15 に示した。K と NH 海域の回帰式の“位置”についてのみ性間に5％水準で有意差が認められたにすぎない。

S. L.—P. A. で認められたと同様に，NS とY海域の P. D. は S. L. 80㎜において各々25.8, 28.1㎜であり，S. L. 200㎜では各々66.9, 66.7㎜である。これらの値はA海域に次いで大きい。A海域とK海域の雌の S. L. 80㎜における P. D. は全海域中最も大きいが（32.2, 30.8㎜），S. L. 200㎜においては逆に最も小さくなる（64.1, 63.2㎜）。NH 海域の P. D. は全ての海域中相対的に大きい範ちゅうに入るが，H海域は中位に位置している。A海域の雄の P. D. は S. L. 80㎜においては全海域の中位にあるが（29.3㎜），S. L. 200㎜においては最大となる（68.4㎜）。

海域間の回帰式の“傾斜”と“位置”の差の検定結果を Table 19 に示した。K海域は H, Y, NH そして NS 海域との間で，NS 海域は A, H, K そしてY海域と，さらに NH 海域は H, Y, K そして NS 海域との間で有意な差が認められた。

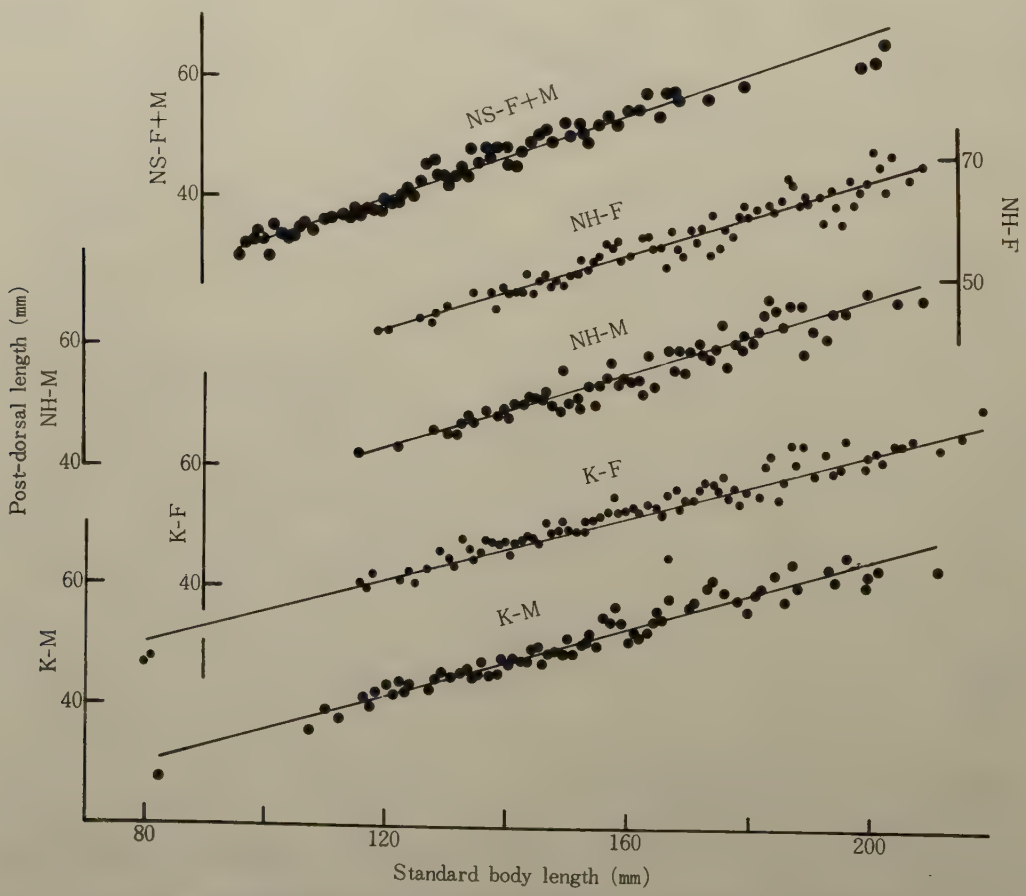


Fig. 5. Relation between standard body length and post-dorsal length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

Table 19. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and post-dorsal length among areas of finespotted flounder.

Area		A		A		H		Y		K		K		NS	
Sex		M		F		M+F		M+F		M		F		M+F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	—	*			—	*	**	—					**	**
K	F			—	*	**	—	**	—					**	—
NS	M+F	—	**	**	**	**	*	*	**						
NH	M	—	—			—	**	—	**	—	**			**	**
NH	F			—	—	—	**	*	—			—	**	**	*

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

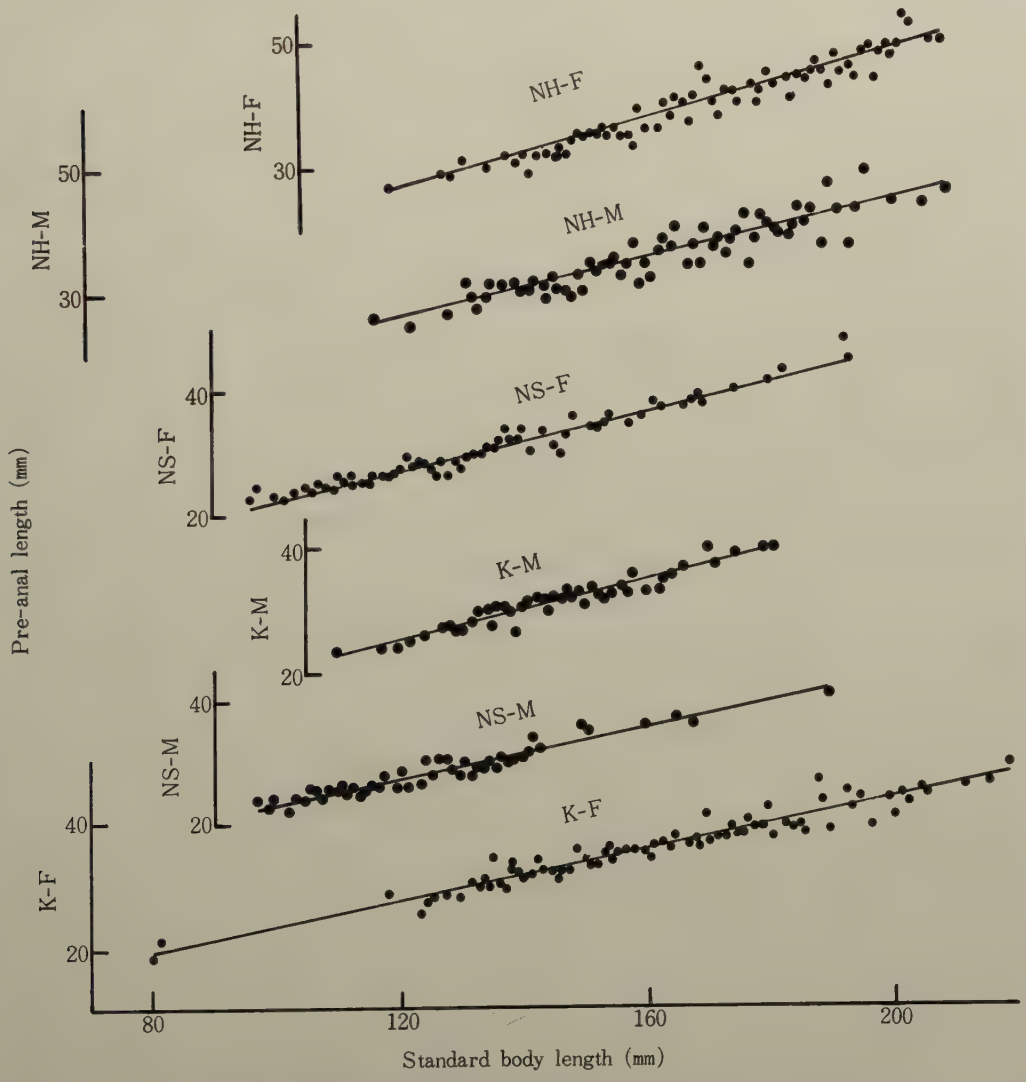


Fig. 6. Relation between standard body length and pre-anal length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

5. S. L.—Pr. A.

NS, K そして NH 海域における S. L.—Pr. A. の相関図を Fig. 6 にそして回帰式を Tables 13～15 に示した。

NH とK海域において1％水準で性間に有意差が存在する。

A, H そしてY海域の S. L. 80㎜における Pr. A. は20.0～20.7㎜の範囲にあり，S. L. に対する Pr. A. の割合は25％以上であるのに対し，NS, K そして NH 海域におけるその割合は19.4～24.0％で相対的に小さい。

S. L. に対する Pr. A. の増大率はA海域，H海域の雄，NS 海域，K海域そして NH 海域では0.202以上であるのに対して，Y海域，A海域，そしてH海域の雌では0.190以下である。このように，Y海域とAとH海域の雌の S. L. 80㎜における Pr. A. は全海域の上位に位置するが（20.7～20.2㎜），S. L. 200㎜における Pr. A. は下位に位置するようになる（42.0～43.3㎜）。逆に，NS, K そして NH 海域における S. L. 80㎜の時の Pr. A. は全海域の下位に位置するが，S. L. 200㎜においては上位に位置するようになる。HとA海域の雄の S. L. 80㎜の時の Pr. A. は各々20.1，20.0㎜であり，相対的に大きい範ちゅうに属する。S. L. 200㎜においても，A海域の雄の Pr. A. は45.9㎜であり全ての海域の上位に位置しているが，H海域の雄は44.3㎜となり，中位に位置するようになる。

海域間の回帰式の“傾斜”と“位置”の差の検定結果を Table 20 に示した。K海域はA, H, Y, NH そして NS 海域と，NS 海域は A, H, K そしてY海域と，そして NH 海域は A, H, Y そしてK海域との間で有意差が認められた。

Table 20. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and pre-anal length among areas of finespotted flounder.

Area		A		A		H		H		Y		Y		K		K		NS		NS	
Sex		M		F		M		F		M		F		M		F		M		F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	**	**			**	**			*	**							**	**		
K	F			—	**			—	**			—	**							**	**
NS	M	*	—			*	—			**	**										
NS	F			—	**			**	**			—	**								
NH	M	**	—			**	—			**	*			—	*			—	—		
NH	F			**	—			**	**			**	*			**	**			*	—

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

6. S. L.—P. V.

Fig. 7 に NS, K そして NH 海域における S. L.—P. V. の相関図を，そして各海域における回帰式を Tables 13～15 に示した。NH 海域においてのみ1％有意水準で性間に差が認められた。

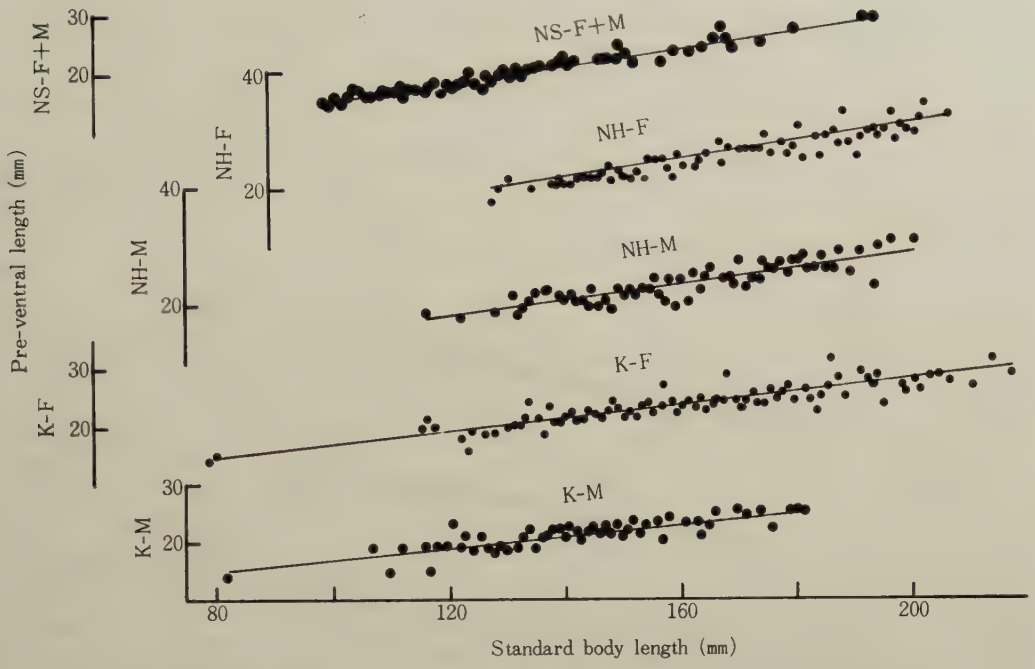


Fig. 7. Relation between standard body length and pre-ventral length of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

S. L. 80㎜における Y, H そしてK海域の P. V. は全海域中最も大きく（14.9㎜），次いでA海域（13.8㎜）そして NH 海域（12.8㎜）の順である。NS 海域の S. L. 80㎜における P. V. は最も小さく12.6㎜であった。しかしながら，逆に，S. L. 200㎜においては NS 海域の雌が全海域中最も大きく（31.2㎜），次いで NS 海域の雄，A海域そして NH 海域の雄の順となり，各々30.8，30.6，そして29.7㎜である。S. L. 80㎜において最も P. V. の大きかった Y. H そしてK海域は S. L. 200㎜になるといずれの海域の P. V. も29.7㎜以下と小さくなる。

海域間の回帰式の相違に関する検定結果を Table 21 に示した。K海域は A, Y, NH そして NS 海域と，NS 海域は A, H, K そしてY海域と，さらに NH 海域は A, H, Y, そしてK海

Table 21. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and pre-ventral length among areas of finespotted flounder.

Area		A		H		H		Y		K		K		NS	
Sex		M+F		M		F		M+F		M		F		M+F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	**	**	—	—			*	**					**	**
K	F	**	**			—	—	—	**					**	—
NS	M+F	—	**	**	—	**	—	**	**						
NH	M	—	**	**	—			**	**	**	**			—	*
NH	F	—	—			**	*	*	—			**	**	—	—

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

域との間で有意な差が認められた。

7. S. L.—P. As.

NS, K そして NH 海域各々の S. L.—P. As. の相関図を Fig. 8 に，そして回帰式を Tables 13～15 に示した。

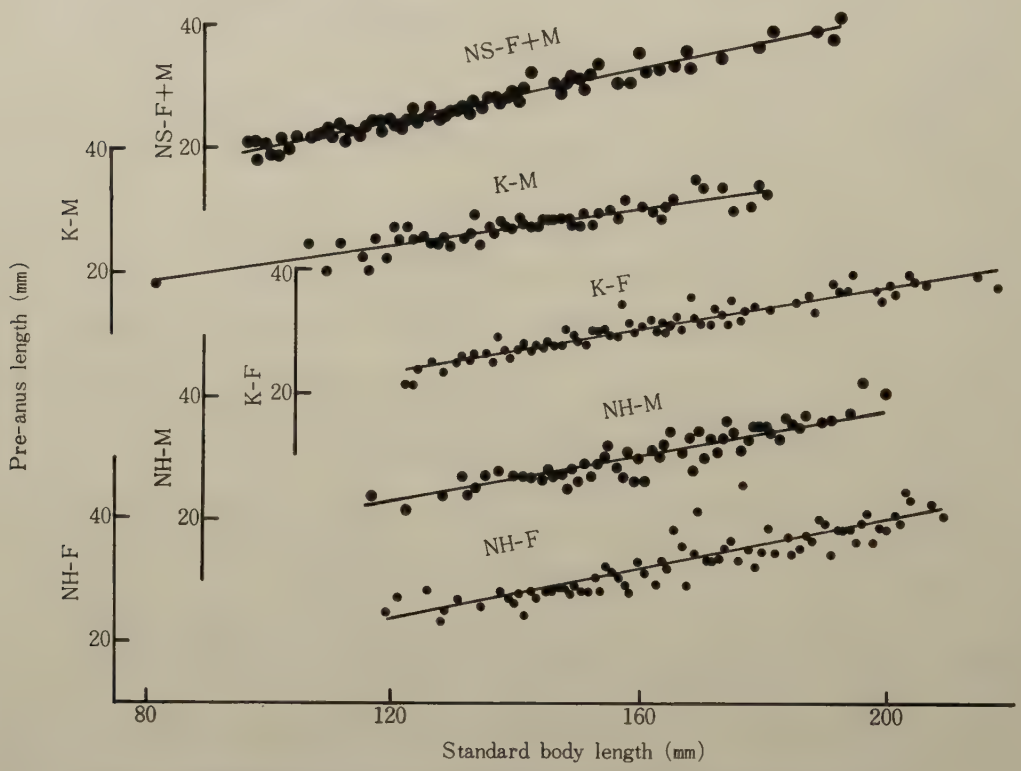


Fig. 8. Relation between standard body length and pre-anus length of finesppted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama.

Table 22. Results of the test of significance of slope and position differencs of the regression relationship between standard body length and pre-anus length among areas of finespotted flounder.

Area		A		A		H		H		Y		Y		K		K		NS	
Sex		M		F		M		F		M		F		M		F		M+F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K	M	*	**			—	—			—	**							**	**
K	F			—	**			—	**			—	**					**	**
NS	M+F	**	—	*	**	**	*	**	*	**	**	*	**						
NH	M	—	**			*	—			—	**			*	—		—	*	**
NH	F			—	**			*	—			—	**			*	**	—	—

Abbreviations are the same as Tables 2 and 13.

NH 海域においてのみ性間に1％有意水準で差が認められた。

海域間の回帰式の“傾斜”と“位置”の差の有意性の検定結果を Table 22 に示した。K海域は A, H, Y そして NS 海域と，NS 海域は A, H, Y 海域と，そして NH 海域は A, Y, K そして NS 海域との間で有意差が認められた。

標準体長と体重との関係

瀬戸内海西部海域産メイタガレイの標準体長（S. L.）と体重（B. W.）との関係は季節によって変化することを正木・伊東（1984）は報告している。本研究で取り上げた NS, K そして NH 海域の標本は，すでに述べたように，前二者は期間1（2月下旬～6月初旬）と期間2（6月下旬～10月初旬），そして NH 海域は期間1において採集されたものである。したがって，これら3海域と正木・伊東（1984）が取り上げた A, H そしてY海域の期間1と2の結果とを対応させて検討した。

S. L. と B. W. の関係は，正木・伊東（1984）が用いたように，allometry の式をあてはめ，対数変換して得られた一次回帰式の“傾斜”と“位置”の差について性間と海域間の有意性を検定した。

期間1：S. L. 100㎜に達したメイタガレイの B. W. は NS 海域が最も小さく（24.6g），K, Y, H, NH そしてA海域の順に大きい。S. L. 150㎜になると，NS 海域における B. W. は6海域中最も小さいが，S. L. 100㎜時に B. W. が大きかった A, NH そしてH海域はYやK海域よりも小さくなり逆転する。さらに，S. L. 200㎜になると，NS 海域は Y, K 海域に次いで大きくなる。

期間2：S. L. 100㎜では B. W. はH海域のものが最も大きく（26.6～27.5g），次いでA海域の雄（26.5g），NS 海域（26.0g），A海域の雌（25.9g），Y海域（24.9g）そしてK海域（22.3g）が最も小さい。しかしながら，S. L. 200㎜になると，H海域（276.5～287.5g）が最も大きく，次いでA海域の雌（269.8g）となる。S. L. 100㎜では小さかったY海域のものが S. L. 200㎜では262.7gとなり，第3番目に大きくなる。S. L. 100㎜と200㎜の両時点における NS 海域の B. W. は全海域の中位に位置し，S. L. 200㎜では B. W. は255.5gに成長する。次いで大きいのはA海域の雄（249.6g）となり，S. L. 100㎜において最も小さかったK海域の B. W. は S. L. 200㎜においても小さい（247.8g）。

Table 23 に NS, K そして NH 海域における S. L.—B. W. の回帰式を，そして Fig. 9 に相関図を示した。

A, H, Y, NS, K そして NH 海域間の回帰式の“傾斜”と“位置”の差の有意性の検定結果を Table 24 に示した。

Fig. 9 に示したように，NH 海域においては S. L. 120㎜を境にして回帰式は相違する。120㎜以下の回帰式をA，120㎜以上のものをBとして Table 23 に別個に示した。

NS 海域の期間1ではA海域と，NS 海域の期間2はH海域と，K海域の期間1はA海域とH

Table 23. Regression equations between standard body length and body weight for finespotted flounder at Kunisaki, Nagasu, and Nagahama.

Area	Period	Male		Female		Sex combined	
		Range (cm)	Regression estimate	Range (cm)	Regression estimate	Range (cm)	Regression estimate
K	1	7.3—18.3	$B.W.=5.1536S.L.^{3.3487}\times10^{-6}$	6.3—21.3	$B.W.=6.8219S.L.^{3.2930}\times10^{-6}$	6.3—21.3	$B.W.=6.1891S.L.^{3.3129}\times10^{-6}$
K	2A	5.3—11.3	$B.W.=3.6334S.L.^{2.8924}\times10^{-5}$	7.3—10.8	$B.W.=6.0879S.L.^{3.2616}\times10^{-6}$	4.8—11.3	$B.W.=2.4501S.L.^{2.9791}\times10^{-6}$
K	2B	12.3—18.3	$B.W.=9.6743S.L.^{3.2236}\times10^{-6}$	13.3—21.3	$B.W.=1.6014S.L.^{3.1236}\times10^{-5}$	12.3—20.8	$B.W.=1.4545S.L.^{3.1427}\times10^{-5}$
NS	1	6.3—14.8	$B.W.=3.0219S.L.^{3.4652}\times10^{-6}$	5.8—16.8	$B.W.=8.8458S.L.^{3.2227}\times10^{-6}$	5.8—16.8	$B.W.=5.9367S.L.^{3.3097}\times10^{-6}$
NS	2	7.3—16.8	$B.W.=5.1172S.L.^{3.3547}\times10^{-6}$	7.3—19.3	$B.W.=5.3324S.L.^{3.3397}\times10^{-6}$	7.3—19.3	$B.W.=6.5711S.L.^{3.2974}\times10^{-6}$
NH	1	11.8—20.8	$B.W.=1.1904S.L.^{3.1809}\times10^{-5}$	11.8—20.8	$B.W.=7.4794S.L.^{3.2667}\times10^{-6}$	11.8—20.8	$B.W.=1.3384S.L.^{3.1557}\times10^{-5}$

Period 1: from late in Feb. to beginning of Jun., Period 2: from late in Jun. to beginning of Oct., Range: range of standard body length in mm, B.W.: body weight in gram, S.L.: standard body length in mm, A: less than 120 mm length of standard body length, B: more than 120 mm length of standard body length, other abbreviations are the same as Table 1.

海域との間で，K海域の期間２のAはA海域，H海域，Y海域そして NS 海域との間で，K海域の期間２のBはA海域の雌，H海域そしてY海域との間でそして NH 海域はA海域とH海域との間で有意な差が認められた。

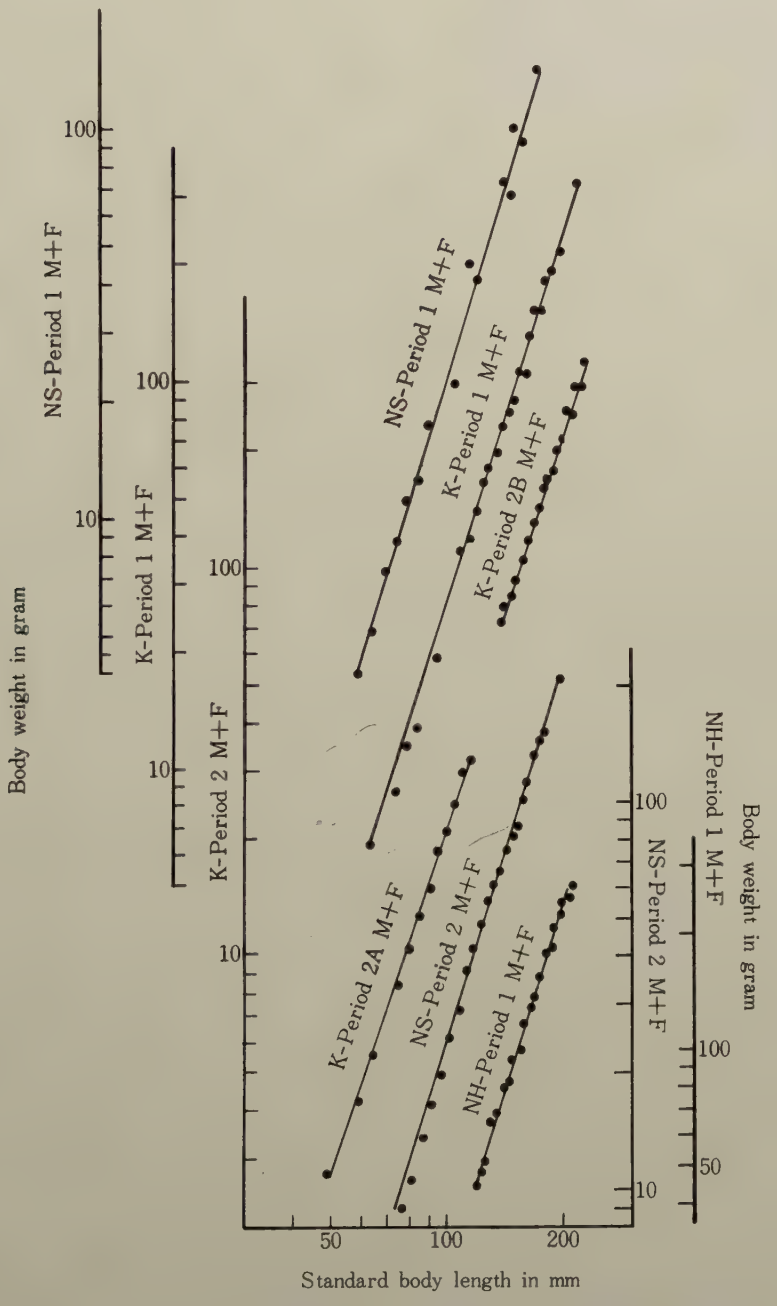


Fig. 9. Relation between standard body length and body weight of finespotted flounder in the sea area off Nagasu, Kunisaki, and Nagahama. Abbreviations are the same as Table 23.

Table 24. Results of the test of significance of slope and position differences of the regression relationship between standard body length and body weight among areas of finespotted flounder.

Area		A-1		A-2		A-2		H-2		H-2		H-1		Y-2		Y-1		NH-1		NS-2		NS-1	
Sex		M+F		M		F		M		F		M+F		M+F		M+F		M+F		M+F		M+F	
Factor		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
K-1	M+F	**	—									**	—			—	—	*	—			—	—
K-2A	M+F			**	**	**	—	**	**	**	**			**	*					**	**		
K-2B	M+F			—	—	**	—	*	**	**	**			**	—					—	—		
NS-1	M+F	**	—									*	—			—	*	—	—				
NS-2	M+F			—	—	—	—	—	**	*	**			—	*								
NH-1	M+F	**	—									—	**			*	—						

Abbreviations are the same as Tables 2, 13, and 23.

論　　議

正木・伊東(1984)は瀬戸内海西部海域に分布するメイタガレイの系統群に関して CPUE の変化，分布密度の経月変化，脊椎骨数，鰭軟条数，相対成長，そして無眼側の体表面にみられる有色出現率の比較から安芸灘，広島湾，伊予灘そして周防灘に各々独立した系統群が存在する可能性を報告している。その中で，特に伊予灘を代表させた標本が東部の安芸灘と広島湾に隣接した二神島周辺水域で採集されたものであったことから，今後より広範囲の水域から標本を入手して伊予灘に分布するメイタガレイの系統について検討する必要を認めている。さらに，標識放流や資源解析に必要なパラメタ等を解明し，より多くの系統群判別形質を用いて見直すことを指摘している。

しかしながら，正木・伊東（1984）が指摘した見直しのための系統群判別形質は短期間に得られるものではない。本研究では，次善の策として，伊予灘の中央部および西部水域に相当する長浜沖合海域（NH 海域）と国東半島沖合海域（K海域）から標本を入手することができたので，正木・伊東（1984）が試みた脊椎骨数，鰭軟条数，相対成長および無眼側の体表面にみられる有色出現率の系統群判別形質を用いて伊予灘に分布するメイタガレイの系統群の分離を試みた。さらに，正木・伊東（1984）は山口県沿岸沖合海域（Y海域）から得た標本で周防灘を代表させて検討しているが，大分県沿岸沖合海域の標本は含まれていない。そこで，本研究では周防灘に分布するメイタガレイの系統群判別をより明確なものにするために，大分県長洲沖合海域（NS海域）の標本を集め，伊予灘におけるメイタガレイの系統群判別と同時に周防灘について再検討した。

Fig. 10 に本研究で取り上げた各系統群判別形質の海域間の差が1％有意水準で認められた結果を模式的に示した。本研究で取りあげた形質の中で測定誤差が少くかつ絶対数として得られる脊椎骨数は最も良い系統群判別形質と考えられるので，Fig. 10 には，太い実線で，海域間に差が認められたものを示した。

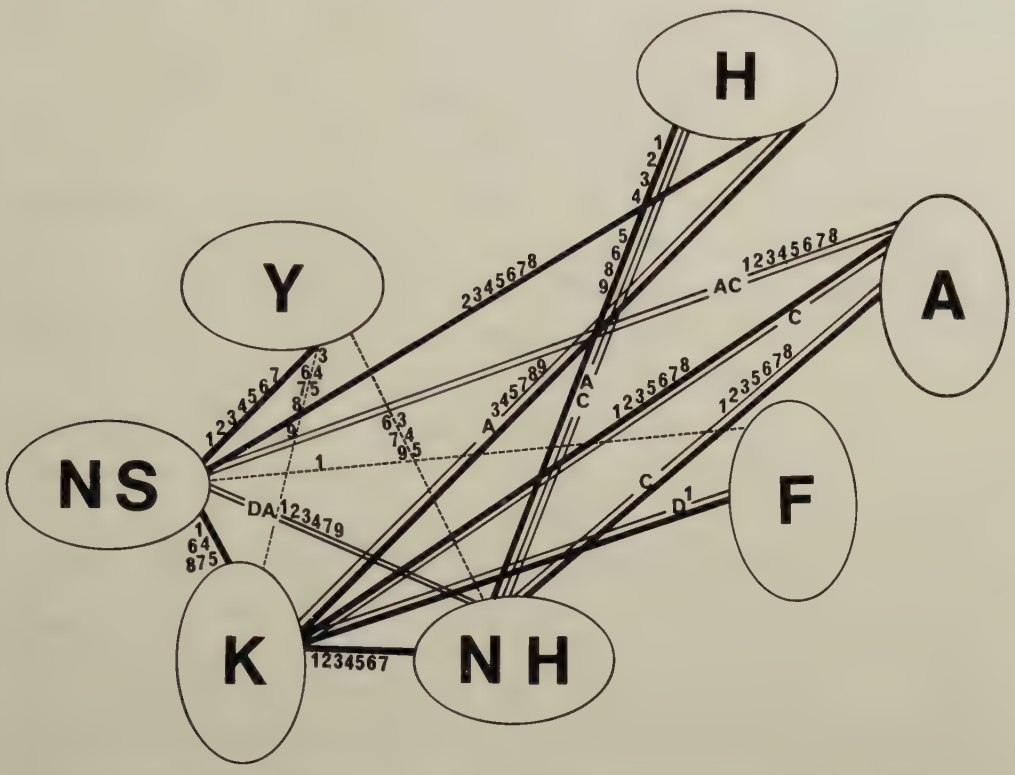


Fig. 10. Diagrammatic figure for the stock identification of finespotted flounder in the Sea of Iyo and in the southern part of the Sea of Suō.
Wide solid line: the difference of the mean number of vertebrae between areas is significant at 1% level of significance, Narrow solid line with capital alphabet and arabic numerals: the difference between areas is significant at 1% level of significance: D: mean number of dorsal soft rays, A: mean number of anal soft rays, 1: S. L.—T. L. relationship, 2: S. L.—H. L. relationship, 3: S. L.—P. A. relationship, 4: S. L.—P. D. relationship, 5: S. L.—Pr. A. relationship, 6: S. L.—P. V. relationship, 7: S. L.—P. As. relationship, 8: S. L.—B. W. relationship, 9: ambicoloration rate, other abbreviations are the same as Table 2.

F, NH とYの3つの海域のものは同一系統群であり，K海域のメイタガレイはY海域のものと，さらに，NS海域の群はNH、FそしてA海域のメイタガレイと同一系統群である可能性を示している。すなわち，NHとF海域，換言すれば伊予灘の中・東部海域に分布するメイタガレイは同一の系統群である。そしてこの系統群とK海域の群とは別個の系統群である。さらに，中・東部伊予灘系統群はY海域やNS海域に分布するメイタガレイと若干の交流の可能性を，またK海域もY海域と交流している可能性を示している。

以上のように，伊予灘には132°E を境にして東西に各々独立した系統群が存在し，周防灘においても33°45′-33°50′Nを境として南北に各々独立した系統群が存在すると考える。このことは正木・伊東（1984）が漁区別の分布密度の経月変化の検討結果から本種の移動について記述しているように，周防灘の山口県側と大分県側とでは移動の時期が若干ずれていること，さらに伊予灘においても祝島，長島，八島および平郡島周辺海域から東西に移動が分れて見られることな

どは上述の系統群分離の正当性を傍証しているものと考えられる。

要　　約

伊予灘産メイタガレイの系統群の分離に関する研究は今だ十分とはいえない。伊予灘の大分県国東半島東岸沖合海域および愛媛県長浜沖合海域から得られた各々555，339尾のメイタガレイ標本を，さらに，国東半島東岸沖合海域と周防灘北部海域である山口県沿岸沖合海域の２つの海域と周防灘南部海域である大分県長洲沖合海域との間の関係を明らかにするために長洲沖合海域から459尾のメイタガレイ標本を入手し本研究の材料として用いた。

各海域から入手したメイタガレイ標本の無眼側体表面に見られる有色現象の出現率，脊椎骨数，背鰭・臀鰭・尾鰭各軟条数，体各部位の相対成長そして体長一体重関係の統計学的有意差の検定結果から伊予灘と周防灘のメイタガレイ系統群の分離を試みた。

長洲沖合海域，国東半島東岸沖合海域および長浜沖合海域に分布するメイタガレイは各々独立した系統群である可能性を示した。

さらに，長洲沖合海域に分布する系統群は二神島周辺海域に分布するメイタガレイとは同一系統群である。しかしながら，伊予灘東部海域（長浜沖合と二神島周辺海域を含む）系統群と国東半島東岸沖合系統群は周防灘北部沿岸系統群とさらに前者は周防灘南部系統群と若干の交流が存在する可能性を見い出した。

文　　献

伊藤　隆，1953：魚個体別に於ける体重，体長関係の統計的取扱法について，日水誌，**19**（８），905–911.

正木康昭・伊東　弘，1984：瀬戸内海西部海域におけるメイタガレイの系統群，南西水研報，**16**，11–51.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

周防灘における海洋細菌の粒子径組成と現存量

今 井 一 郎

Size Distribution and Biomass of Bacteria in Suō-Nada, Western Seto Inland Sea

Ichiro IMAI

The size distribution and biomass of bacteria were investigated in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May, July and October 1982. Bacterial cell volumes were measured by microcomputer-assisted image analysis of the fluorescent cells in epifluorescence microphotographs.

The size (equivalent spherical diameter) of bacteria ranged from 0.2 to 1.0 μm. More than 70% of them belonged to the size fraction between 0.4 and 0.7 μm. The mean cell volume of bacteria in different samples varied in a range between 0.041 and 0.126 μm^3, with an average of 0.098 μm^3. The mean volume in the samples taken from the depths appeared to be smaller than those from the surface.

Number of bacteria ranged from 0.45 to 3.03 $\times 10^{12}$cells$\cdot m^{-3}$, and the amount of carbon from 3.8 to 25.5 mgC$\cdot m^{-3}$. Concentrations were higher in coastal areas than offshore. Horizontal distribution of bacterial biomass expressed as carbon under 1 m^2 water column revealed a tendency to be more abundant in proportion to depth, with the range from 0.09 to 0.44gC$\cdot m^{-2}$. Total biomass in Suō-Nada was estimated to be 677 ton carbon per area.

従属栄養細菌を中心とする海洋細菌は，海洋において有機物を分解・無機化し，栄養塩再生者としての役割を演じる一方，有機物を栄養源として増殖することにより，粒状態有機物の生産者として重要な役割を演じている。海洋の低次生物生産過程の従来の図式の中で細菌は，分解者としての役割が強調され，生産者としての側面は見過されてきた。

近年，従属栄養性微小鞭毛虫類を中心とした10μm 以下の大きさの微小原生動物が，細菌を捕食し（HAAS and WEBB 1979, FENCHEL 1982a），しかも沿岸水中に約10^3cells$\cdot ml^{-1}$ 以上の密度で存在すること（FENCHEL 1982b, SHERR and SHERR 1983, 今井・伊藤1984）が明らかにされた。また，海洋細菌が微小原生動物を通じて食物連鎖に参入し，低次生産系において重要な位置を占めているという指摘もなされている（AZAM *et al.* 1983）。

海洋の低次生産系における細菌の役割を明らかにするには，まずその現存量を正確に把握することが重要である。最近の落射螢光顕微鏡と染色技術の発達により，細菌の直接計数の精度は非常に高くなった（HOBBIE *et al.* 1977, BOWDEN 1977）が，食物連鎖系に組み込みその役割を評価

1984年6月19日受理，南西海区水産研究所業績第147号，〒739—04 広島県佐伯郡大野町

するためには，細胞数の把握のみでは不充分であり，炭素等の物質量で把握することが必要である。そこで，瀬戸内海西部に位置する周防灘を対象水域として，海洋細菌の直接計数を行ない，画像解析によって平均体積を求め，海水中の細菌の現存量を算出したので報告する。

本研究は科学技術庁科学技術振興調整費による「海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究」の一部として実施したものである。

材料および方法

1982年5月下旬，7月中旬および10月中旬の3回，Fig. 1 に示した周防灘の定点（St.）において，バンドーン採水器により各層採水を行ない，同時に水温，塩分（TS 水質モニター，鶴見精器モデル1を使用）を測定した。採水層は各 St. とも0，5，10，20，……B-1 m（海底から1 m上層）である。なお，Sts. 6, 10, 11, 13, 15 ならびに16 では2 m層からも採水した。採水試料はねじ口試験管に収容して，グルタールアルデヒドで固定（最終濃度0.5%）し，冷蔵保存した。

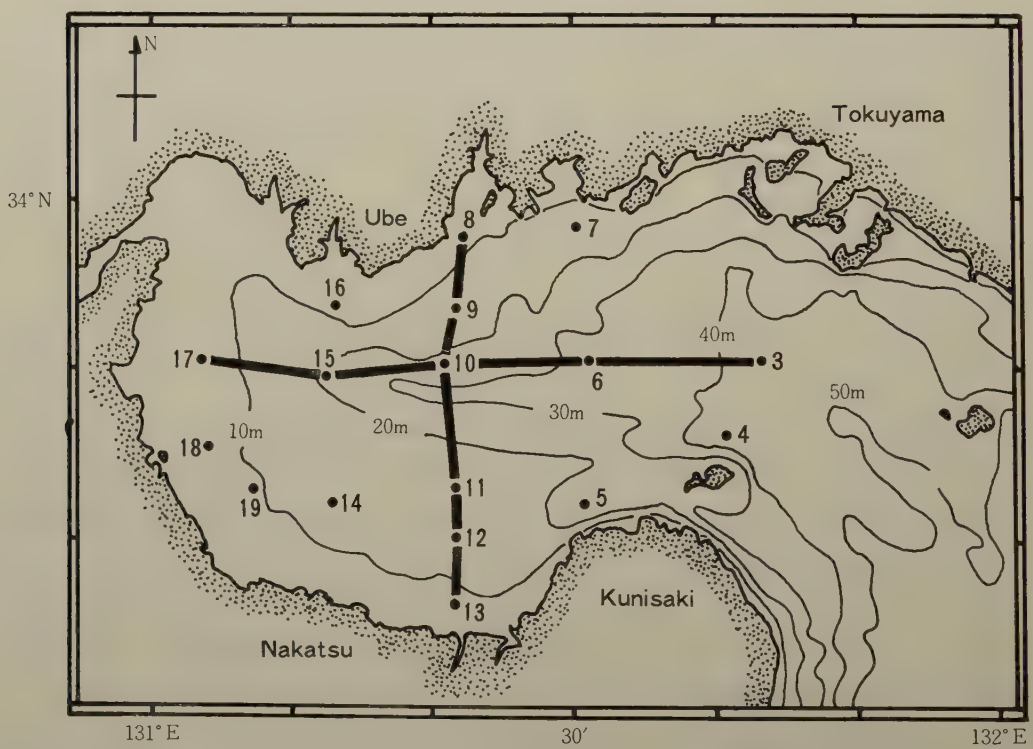


Fig. 1. Location of sampling stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, with isodepth contours. East-West and North-South sections are shown by solid lines.

1. 細菌体積の測定

Sts. 3, 10, 11, 13 および17から採水した試料を用いて，細菌体積を測定した。各試料を，450℃ 1時間 熱処理した 試験管にそれぞれ 5—10ml とり，螢光染料 4′6-diamidino-2-phenylindole

(DAPI) (PORTER and FEIG 1980) を最終濃度 0.5 $\mu g \cdot ml^{-1}$ になるように加えた。5分間以上染色した後，Sudan black B で染めた孔径 0.2 μm の Nuclepore フィルター (ZIMMERMANN *et al.* 1978) 上に試料をろ過捕集し，無螢光イマージョンオイルでフィルターを封入して検鏡，撮影用の標本とした。これらの標本はオリンパス落射螢光顕微鏡 (BH 2-RFL 型) で検鏡し，カラースライド用フィルム (Kodak Ektachrome 400) を用いて撮影を行ない，スライド標本を作成した。Hewlett Packard 社製マイクロコンピューター (9845 B 型) に接続したグラフィック・タブレット (同社 9111 A 型，精度 0.1mm) 上に，このスライド標本を投影機で9,200倍に拡大投影し，青色に見える細菌像の幅 (W) と面積 (S) の測定を行なった。W は，細菌像の幅の2点 (Fig. 2) をスタイラスペンで指示し，マイクロコンピューターでその座標を読み取って2点間の距離として，また S は，細菌像の輪郭をなぞり，台形公式による近似積分を用いて算出した。拡大倍率は，対物ミクロメーターを撮影したスライド標本を，同様に拡大投影して決定した。種々の形態の細菌の体積 (V) は，測定値と等しい W と S を持つカプセル体 (円柱の両側に半球がついたもの) に変換し (Fig. 2)，次式に従って計算を行なった。

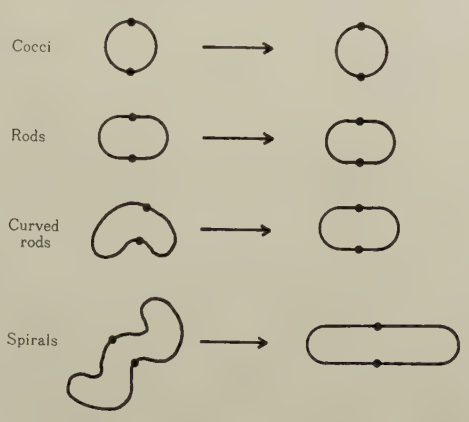


Fig. 2. Theoretical schme for the calculation of bacterial cell volumes of different forms. Each type of cell form (left) is coverted into the cylinder shape with hemispherical caps (right) having the same width and area as the original.

$$V=\frac{\pi WS}{4}+\frac{\pi W^3}{6}-\frac{\pi^2 W^3}{16}$$

なお，V の測定には，各々の試料について50—80細胞を用いた。

2. 現存量の測定

(i)細菌数　各試料の0.3—1.0ml を試験管 (前述の熱処理済) にとり，除菌海水で2.7ml に希釈したものに 5.0 $\mu g \cdot ml^{-1}$ の DAPI 溶液 0.3ml を加えて5分間以上染色した。以後の計数用標本は前述の手順に従って作成した。細菌数は，落射螢光顕微鏡下で接眼格子 (10×10) 内に見える細菌を10視野以上，合計 200 細胞以上計数することによって求めた。染色に使用した除菌海水や DAPI 溶液は，孔径0.22 μm の Millipore フィルターでろ過し，グルタールアルデヒドを加えた (最終濃度0.5%) 後に冷蔵保存したものであり，計数時には必ず細菌混入の有無を確認した。

(ii)炭素量への変換　各調査期における灘の平均細菌体積は，前述の5定点の平均体積の平均値をもってあてた。細菌体積を炭素量に変換する際には，この値に変換係数 0.087gC·cm^{-3} (FERGUSON and RUBLEE 1976) を乗じることによって細菌1細胞あたりの炭素含量を求め，これに細菌密度を乗じて炭素量としての現存量を算出した。

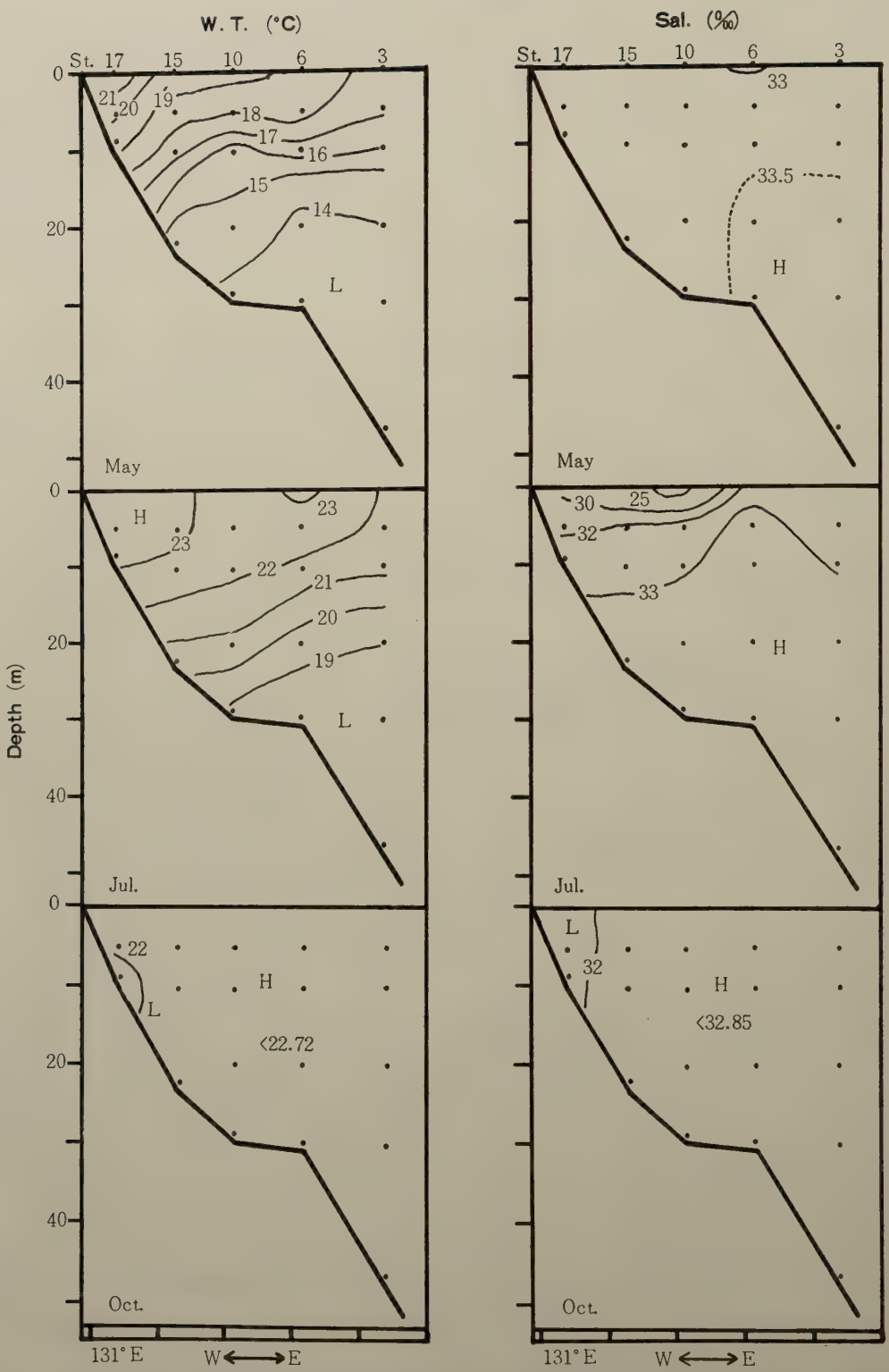


Fig. 3. Profiles of temperature and salinity along the East-West section.

結　　果

各調査期における周防灘の東西・南北断面（Fig. 1 の太い線）での水温と塩分の鉛直分布を Figs. 3 と 4 に示した。5月の水温は13.7—22.1℃，7月には18.0—24.7℃の範囲にあり，水温躍層は10—20m深に存在していた。両月の水温は灘の南部と西部沿岸域で高く，北部と東部水域で低い傾向を示した。10月では，灘全体に22℃前後であった。

塩分は，5月で約33‰とほぼ一様であり，7月には降雨の影響で5m層までの上層において著しく低下し，10月には再び全域的にほぼ一様（32‰）になった。

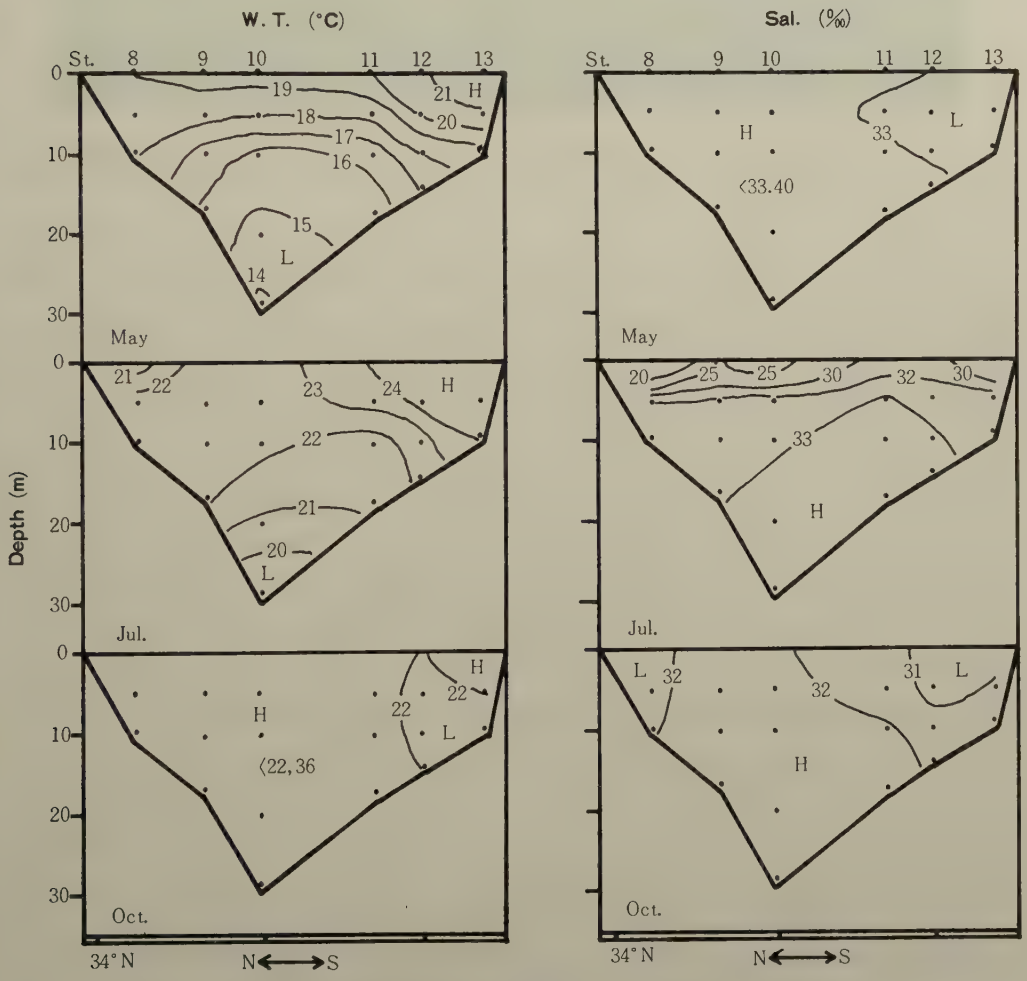


Fig. 4. Profiles of temperature and salinity along the North-South section.

1. 細菌の体積

DAPI 染色を施した細菌の螢光顕微鏡写真の1例を Fig. 5 に示した。細菌は青く輝き輪郭が

Fig. 5. An epifluorescence microphotograph of DAPI-stained bacteria in a sample collected in Suō-Nada. Bacteria are seen as blue spots with clear outlines. ×1250.

はっきりしているので，黄色や不定形に見える他の粒子と容易に識別できた。

細菌の体積を求める前に，5種類の形態の異なる細菌を選び，それらの体積を各々10回ずつ繰り返し測定することによって，測定値の変動を調べた。変動係数（C. V.）は各々7.3，10.3，8.5，7.4および4.8%とほぼ約10%以下であった。

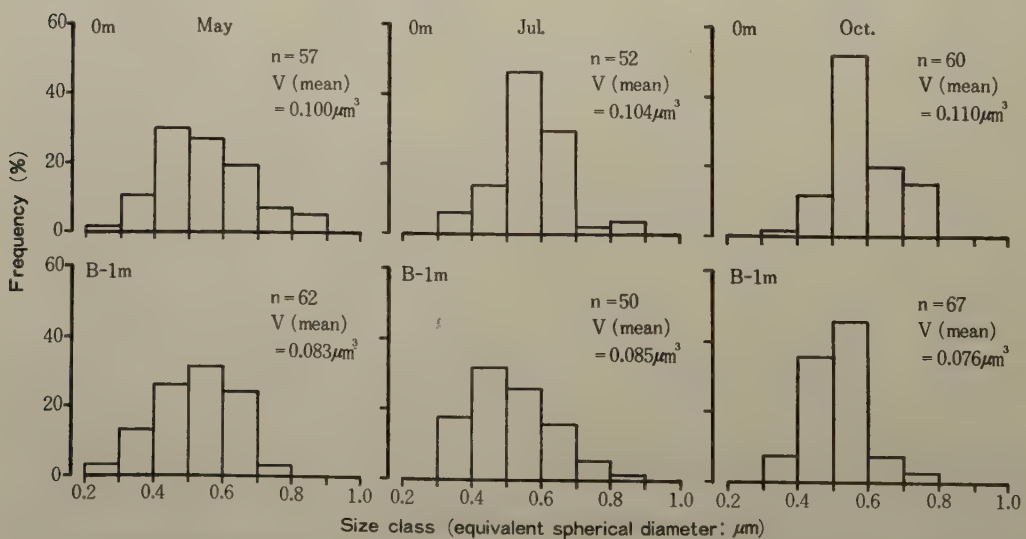


Fig. 6. Size frequency distribution of bacteria at 0 m and B-1 m (1 m above the bottom) at St. 10 in Suō-Nada. Bacterial cell volumes were determined by microcomputer-assisted image analysis of the fluorescent cells in epifluorescence microphotographs. Percentage of the total number of bacteria in each size class is shown by histogram.

St. 10 の 0m と B-1m における細菌の粒子径分布を Fig. 6 に示した。細菌の粒子径は球形換算値で直径 0.2-1.0 μm の間にすべてあり，特に 0.4-0.7 μm のものが大部分で，全細菌数の74—90%を占めた。それに対し，0.4μm 以下の細菌は少なく 2—18%にすぎなかった。ただ，5 月の St. 3, 20m 層の細菌は 0.4 μm 以下のものが全体の45%を占めた。

次に，周防灘の東部，中央部，西部に位置する Sts. 3, 10 および17の各層の試料中の平均細菌体積を Table 1 に示す。平均体積は，0.041-0.126μm^3 の範囲であり，表層で大きい値を示す傾向があった。地理的あるいは季節的な平均細菌体積の変化よりも，鉛直的な変化の方が大きいようである。

Table 1. Mean bacterial cell volume (μm^3) in the samples collected at three stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Station and depth		May	Jul.	Oct.
St. 3	0m	—	0. 124	0. 115
	5m	0. 115	0. 116	0. 108
	10m	0. 110	0. 101	0. 105
	20m	0. 041	0. 078	0. 073
	30m	0. 053	0. 090	0. 086
	B-1m#	—	0. 086	0. 085
St. 10	0m	0. 100	0. 104	0. 110
	5m	0. 112	0. 096	0. 093
	10m	0. 082	0. 096	0. 090
	20m	0. 094	0. 095	0. 084
	B-1m	0. 083	0. 085	0. 076
St. 17	0m	0. 102	0. 126	0. 111
	5m	0. 116	0. 106	0. 097
	B-1m	0. 088	0. 090	0. 087

#: 1m above the bottom

2. 現存量

3 回の調査における細菌数の最小値と最大値は Table 2 に示したようにそれぞれ，0.45 $\times 10^{12}$ と 3.03×10^{12} cells$\cdot m^{-3}$ であり，炭素量ではそれぞれ，3.8 と 25.5mgC$\cdot m^{-3}$ であった。各調査期での平均細菌数および炭素量は，季節によってそれほど変化しないようである。

灘の東西・南北断面における細菌数および炭素量の鉛直分布を Figs. 7 と 8 に示した。東西断面では，豊後水道からの外海系水の影響を受けると思われる灘東部で少なく，陸地に近い西部沿岸域で多く分布した。7 月の St. 17 を除けば，分布の鉛直変動はさほど大きくない。また南北断面における分布は，全般に北部および南部沿岸水域で多く，外海系水の流入する灘中央部で少ない傾向が認められた。混合期(10月)には，南部沿岸域の底層部に他と比べて多くの細菌が存在していた。

水柱における細菌数および炭素量の平均密度の水平分布を Fig. 9 に示す。分布は季節的にやや変化するものの，全般的には灘東部—中央部で低密度，西部と南部沿岸域で高密度であった。ただ，豊前沖の St. 19 は 5 月と10月に低密度であり，他の沿岸域と違う様相をみせた。

Table 2. Bacterial number and carbon in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Date	Number ($\times 10^{12}$cells$\cdot m^{-3}$)			Carbon (mgC$\cdot m^{-3}$)		
	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	Mean
May	0. 61 —	2. 58	1. 24	4. 8 —	20. 4	9. 85
Jul.	0. 47 —	2. 79	1. 34	4. 3 —	25. 5	12. 30
Oct.	0. 45 —	3. 03	1. 48	3. 8 —	25. 4	12. 44
Mean			1. 36			11. 53

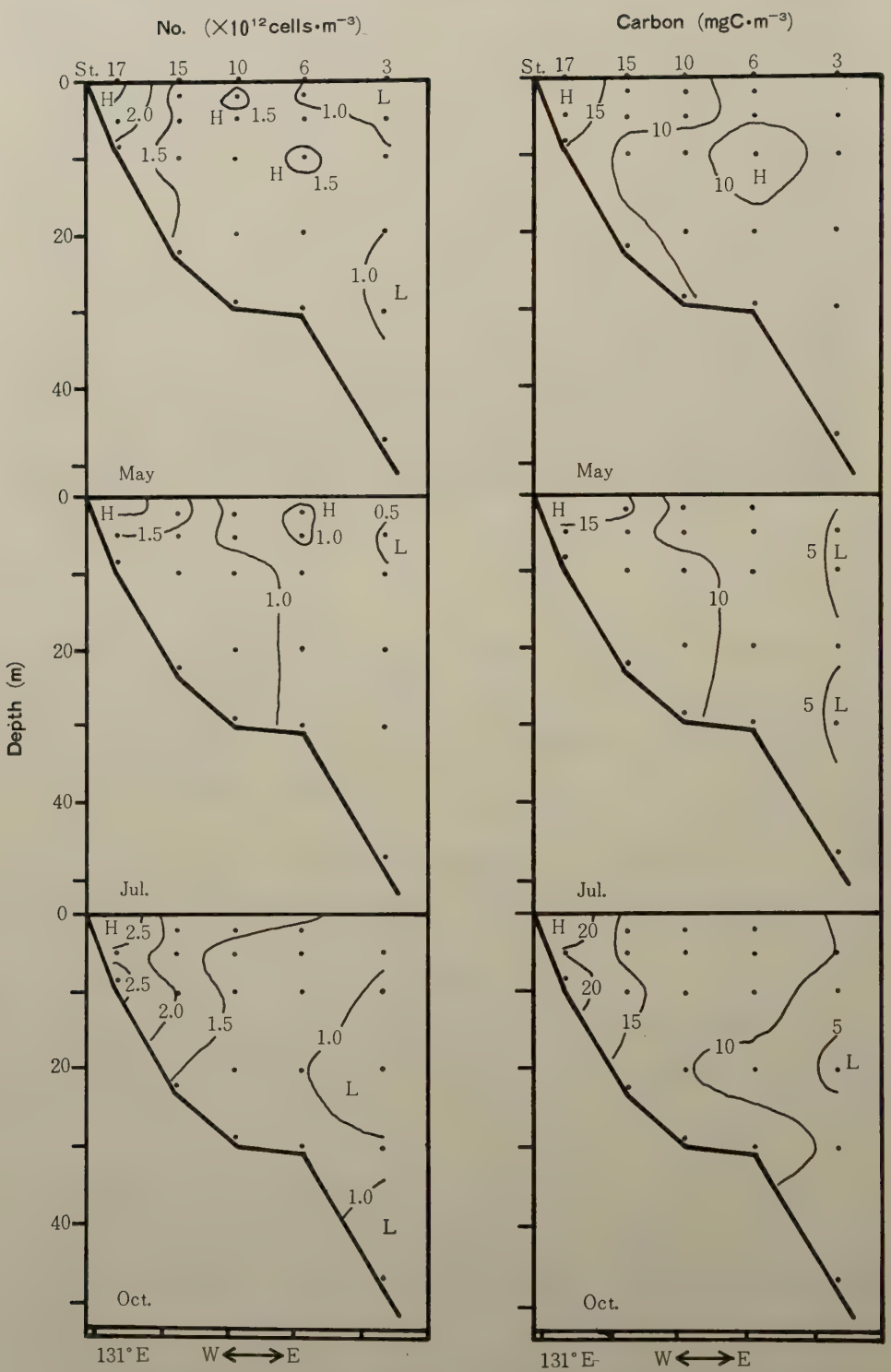


Fig. 7. Distribution of the bacterial cell number and the amount of carbon along the East-West section.

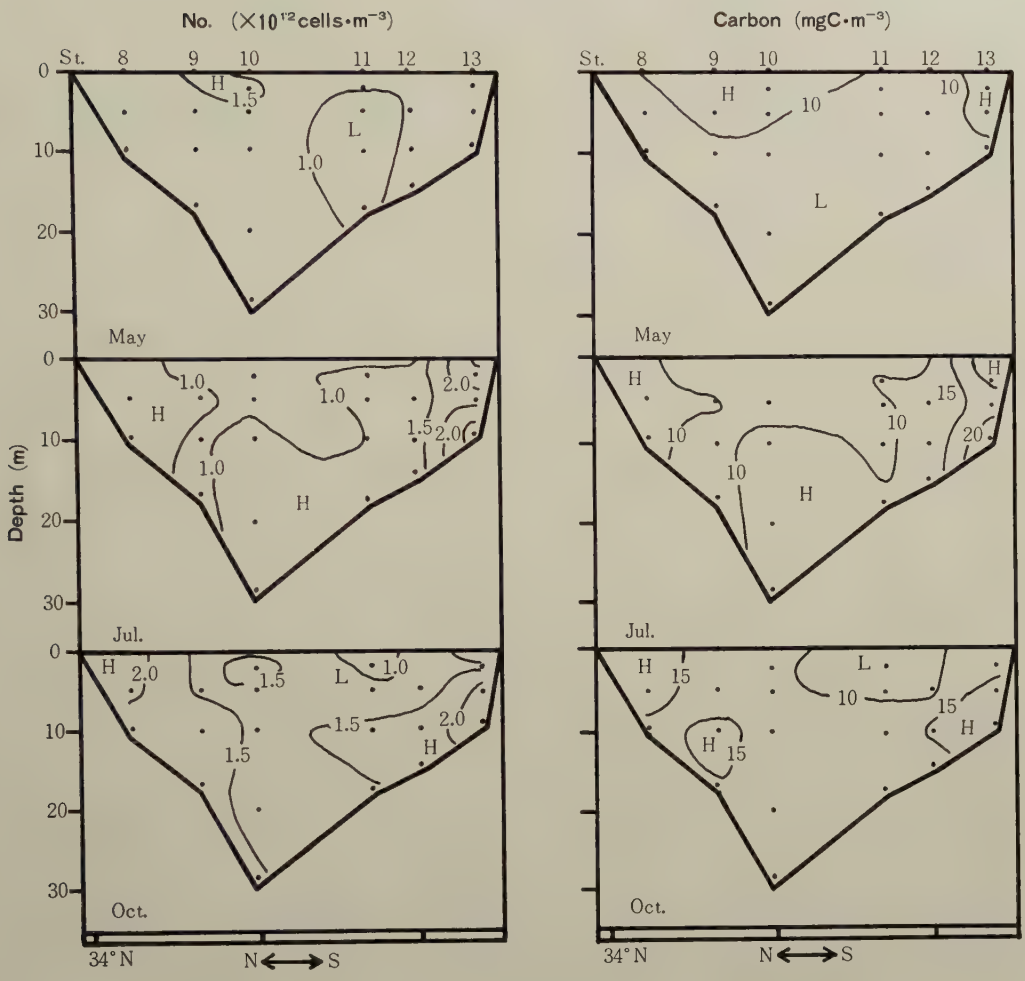


Fig. 8. Distribution of the bacterial cell number and the amount of carbon along the North-South section.

Table 3. Mean cell volume, cell number and biomass of bacteria in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Date	Mean cell volume (μm^3)	Number ($\times 10^{13}$cells·m^{-2})	Biomass (carbon)	
			Water column (gC·m^{-2})	Areal total (ton C)
May	0.091(n=1096)#	2.57	0.204	632
Jul.	0.105(n=1175)	2.38	0.218	676
Oct.	0.098(n=1252)	2.72	0.233	722
Mean	0.098(n=3523)	2.56	0.218	677

: The number of bacteria used for size determination

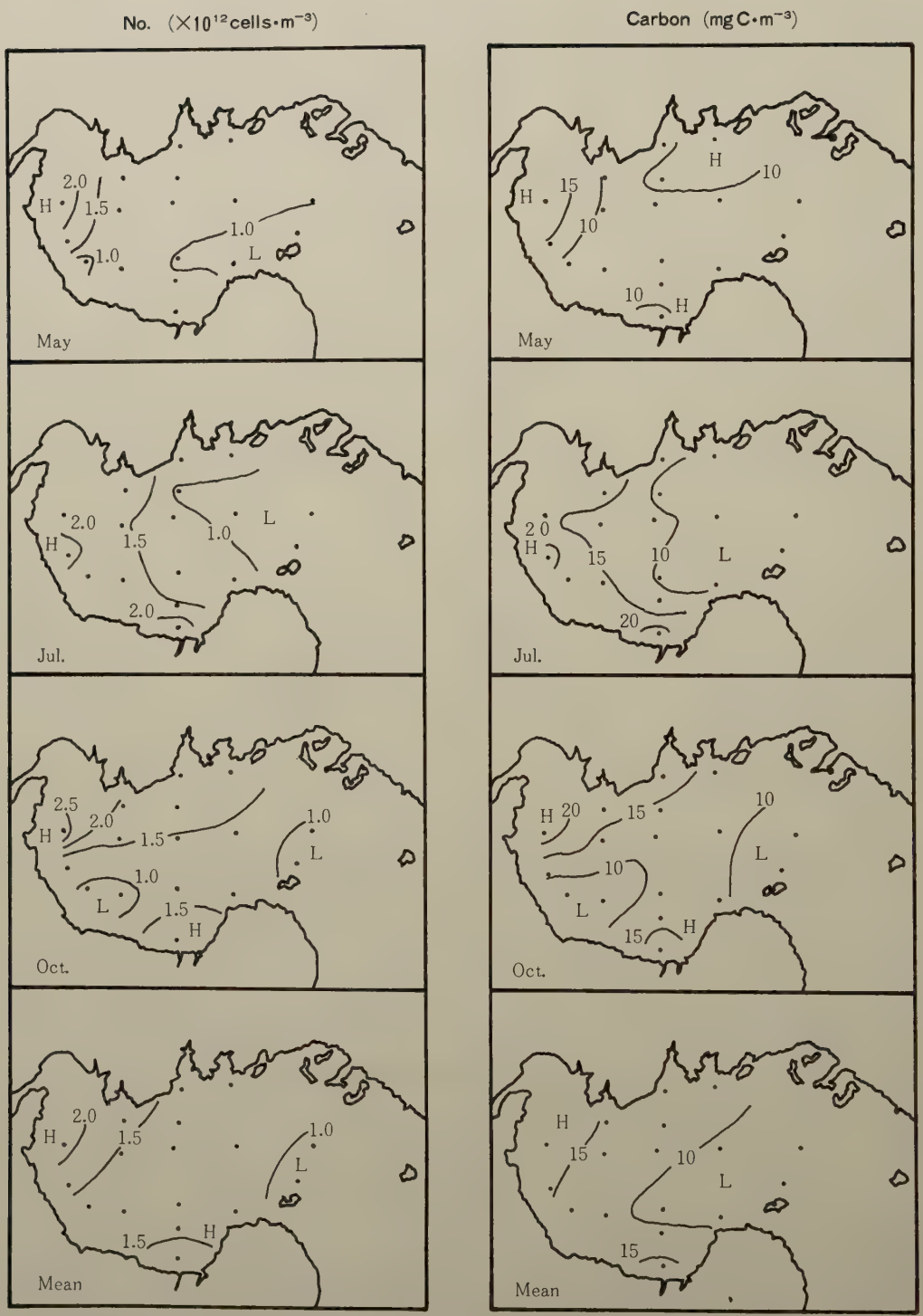


Fig. 9. Horizontal distribution of mean cell number and carbon of bacteria in water column.

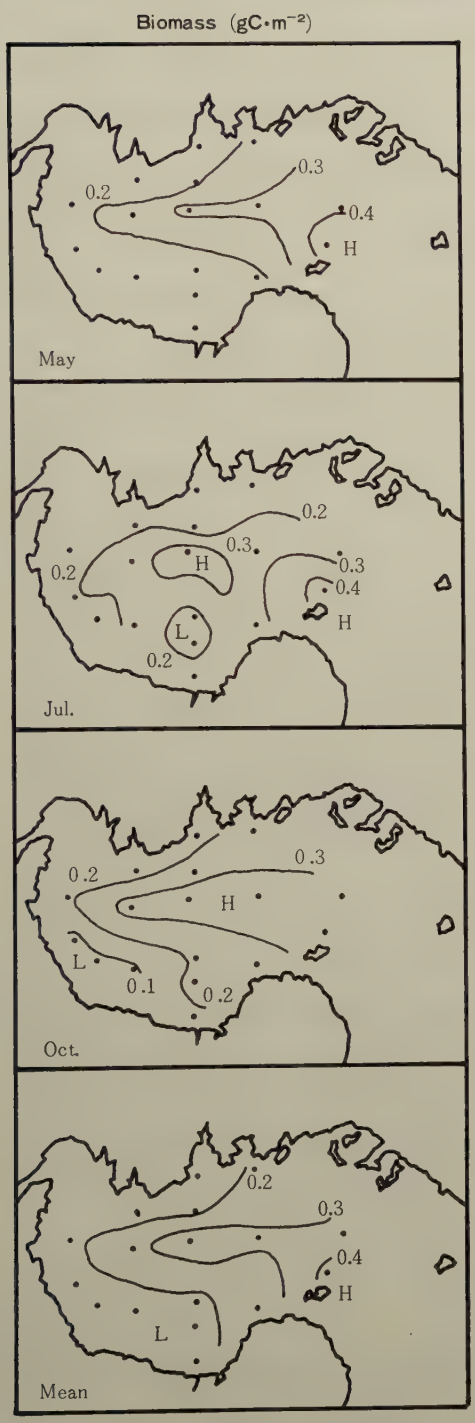


Fig. 10. Horizontal distribution of bacterial biomass in the amount of carbon under one square meter of water column.

単位面積あたりの細菌現存量（Fig. 10）は，各時期とも若干の変動はあるが全体として水深に対応して変化し，沿岸域で少なく（0.1-0.2gC·m^{-2}），東部—中央部で多かった（0.2-0.4gC·m^{-2}）。

周防灘における細菌の平均体積，細菌数および炭素量を，とりまとめて Table 3 に示した。3回の調査における各平均値はそれぞれ，0.098 μm^3，2.56×10^{13} cells·m^{-2}および0.218gC·m^{-2}であった。周防灘の面積を3,100km^2（村上1976）とすると，灘全体の細菌現存量は炭素量にして約677トンと試算された。

考　　察

海洋細菌の現存量の測定には，全細菌数と平均体積を組み合わせた方法が一般に広く用いられている（Pedrós-Alió and Brock 1982, Rheinheimer and Schmaljohann 1983）。体積を算出する基礎となる細菌粒径の測定には，走査型電子顕微鏡（SEM）（Krambeck *et al.* 1981）と螢光顕微鏡（Fuhrman 1981）が主に使用されてきた。ただSEMの場合，試料の脱水処理過程で細胞の収縮が起り，これが過小評価の原因になるという指摘がある（Fuhrman 1981）。それに対し，螢光顕微鏡による粒径測定は，SEMに比べ試料の前処理も簡単で，問題点も少なく，より正確なものとなるはずである。しかし，顕微鏡による高倍率でのミクロメーターを用いた細菌細胞サイズの測定では，わずかな読み取り誤作でも体積換算では大きな誤差として反映され，正確な値を得るのがきわめて困難であるばかりか，多大な時間と労力も要求される。

これらの問題を解決するため，SEM像を撮影し拡大した後，コンピューターを用いて体積を測定したり（Krambeck *et al.* 1981），Acridine

Orange（AO）染色を施した細菌の螢光顕微鏡写真を画像解析装置にかけてサイズを測定する方法（Maeda and Taga 1983）が採用されてきた。

本研究における細菌体積の測定法は，細菌試料の染色に DAPI を，また画像解析に螢光顕微鏡カラースライド写真標本を用いたことに特徴がある。これまで一般的に用いられてきた AO 染色や白黒写真では，海水中にかなり多量に存在し細菌とサイズの近い小形の藍藻（Johnson and Sieburth 1979）を細菌と区別することは非常に困難（Rheinheimer and Schmaljohann 1983）であるが，本報の方法では藍藻が橙色に見えて識別が容易である。また，試料中の細菌の粒子径分布も詳細に把握でき，種々の水域における細菌群の粒子径組成の相違等を，より高い精度で比較検討することもできよう。

他水域における細菌の平均体積については，0.06 μm^3（Zimmermann 1977）から 0.159 μm^3（Pedrós-Alió and Brock 1982）の範囲での報告がある。周防灘の各試料で得られた細菌の平均体積は0.041-0.126 μm^3 の範囲にあり，全体の平均値は 0.098 μm^3（球形換算直径0.57 μm）であり，諸水域の測定値に近いものである。

van Es and Meyer-Reil（1982）は，自然水域における全細菌数の分布の特徴を総説し，河口域で 5.0×10^{12} cells$\cdot m^{-3}$ 以上，沿岸域で $1.0-5.0\times10^{12}$ cells$\cdot m^{-3}$，沖合で $0.5-1.0\times10^{12}$ cells$\cdot m^{-3}$ と述べている。周防灘における全細菌数は $0.45-3.03\times10^{12}$（平均 1.36×10^{12} cells$\cdot m^{-3}$）であり，上述の区分に従うと，東部海域を除くほとんどの水域が沿岸域の範囲に属することになる。

水域の低次生産系における細菌の重要性を，細菌と植物プランクトンの現存量比によって評価したものがある。これによると，富栄養湖において細菌現存量は植物現存量の約10%（Pedrós-Alió and Brock 1982）と報告された例があり，一方湧昇域では細菌現存量が植物プランクトンのそれを上回る場合（Watson 1978）もある。周防灘における7月と10月の平均細菌現存量は各々12.30と12.44 mgC$\cdot m^{-3}$ であり（Table 2），同時期に山口・安楽（1984）が測定した植物プランクトン現存量（51.6と69.6 mgC$\cdot m^{-3}$）の23.8%と17.9%（平均20.4%）を占めることになる。細菌は植物プランクトンよりもサイズが小さく，生体量あたりの代謝が大きいので当然 P/B 比が大きいはずである。したがって生産量の面からみると，植物プランクトンに対する比率は現存量の場合（20.4%）よりも大きくなると推定され，低次生産過程において細菌は量的に相当重要な部分を占めていると考えられる。今後，さらに食物連鎖系への細菌の参入過程を，室内および野外を通じて明らかにしていくことが重要である。

摘　　要

周防灘において1982年5月，7月および10月の3回，海洋細菌の粒子径組成と現存量について調査し，以下の知見を得た。

1．細菌の粒子径は球形換算にして，直径 0.2-1.0 μm の範囲にあり，その中で 0.4-0.7 μm のものが全体の74—90%を占め，0.4 μm より小さいものは18%以下であった。灘全体における細菌の平均粒径は 0.57 μm である。

2．各試料の細菌の平均体積は 0.041-0.126 μm^3 の範囲にあり，5月，7月および10月の体積は平均値でそれぞれ 0.091，0.105 ならびに 0.098 μm^3 であった。3回の測定値を平均した灘全体の細菌の平均体積は 0.098 μm^3 である。

3．細菌数は $0.45-3.03\times10^{12}$ cells$\cdot m^{-3}$，炭素量は 3.8-25.5 mgC$\cdot m^{-3}$ の範囲にあり，灘全体の平均値はそれぞれ，1.36×10^{12}cells$\cdot m^{-3}$ および 11.53mgC$\cdot m^{-3}$ であった。細菌密度は一様でなく，灘東部から中央部水域にかけて少なく，沿岸水域に多く分布した。

4．1 m^2あたりの現存量は水深と対応し，沿岸域で少なく，東部—中央水域に多い。全域の平均現存量は 0.218gC$\cdot m^{-2}$ であり，灘全体にして約677トン C と試算した。

5．7月と10月の細菌の平均現存量が，植物プランクトンの約20%に相当したことは，細菌が海洋の低次生産の中で重要な位置を占めていることを示唆している。

謝　　辞

本研究を進めるにあたり，画像解析法の開発に多大な御協力をいただいた南西海区水産研究所内海資源部の石岡清英，岸田達の両氏に心から感謝の意を表する。また，採水等の海上作業において御協力いただいた山口県内海水産試験場調査船みどり，および南西海区水産研究所調査船しらふじ丸の乗組員各位に厚く御礼申し上げる。さらに，本稿に対して懇切かつ有益な御指導と御助言を賜わった京都大学農学部水産学科石田祐三郎教授，南西海区水産研究所赤潮部長安楽正照博士ならびに赤潮生物研究室長伊藤克彦博士に記して深謝する。

引　用　文　献

Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil and F. Thingstad, 1983: The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser., **10,** 257–263.

Bowden, W. B., 1977: Comparison of two direct-count techniques for enumerating aquatic bacteria. Appl. Environ. Microbiol., **33,** 1229–1232.

van Es, F. B. and L. A. Meyr-Reil, 1982: Biomass and metabolic activity of heterotrophic marine bacteria. In "Advances in microbial ecology" vol. 6. ed. K. C. Marshall, Plenum Press, New York/London, 111–170.

Fenchel, T., 1982a: Ecology of heterotrophic microflagellates. I. Some important forms and their functional morphology. Mar. Ecol. Prog. Ser., **8,** 211–223.

Fenchel, T., 1982b: Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. Mar. Ecol. Prog. Ser., **9,** 35–42.

Ferguson, R. L. and P. Rublee, 1976: Contribution of bacteria to standing crop of coastal plankton. Limnol. Oceanogr., **21,** 141–145.

Fuhrman, J. A., 1981: Influence of method on the apparent size distribution of bacterioplankton cells: Epifluorescence microscopy compared to scanning electron microscopy. Mar. Ecol. Prog. Ser., **5,** 103–106.

Haas, L. W. and K. Webb, 1979: Nutritional mode of several non-pigmented microflagellates from the York River estuary, Virginia. J. exp. mar. Biol. Ecol., **39,** 125–134.

Hobbie, J. E., R. J. Daley and S. Jasper, 1977: Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. Appl. Environ. Microbiol., **33,** 1225–1228.

今井一郎・伊藤克彦, 1984：1983年5月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布. 南西水研報, (17), 219–233.

Johnson, P. W. and J. McN. Sieburth, 1979: Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. Limnol. Oceanogr., **24,** 928–935.

Krambeck, C., H. J. Krambeck and J. Overbeck, 1981: Microcomputer-assisted biomass determination of plankton bacteria on scanning electron micrographs. Appl. Environ. Microbiol., **42,** 142–149.

Maeda, M. and N. Taga, 1983: Comparison of cell size of bacteria from four marine localities. La mer, **21,** 207–210.

村上彰男, 1976：瀬戸内海の海域生態と漁場, フジ・テクノシステム, 東京, 415p.

Pedrós-Alió, C. and T. D. Brock, 1982: Assessing biomass and production of bacteria in eutrophic Lake Mendota, Wisconsin. Appl. Environ. Microbiol., **44,** 203–218.

Porter, K. G. and Y. S. Feig, 1980: The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr., **25,** 943–948.

Rheinheimer, G. and R. Schmaljohann, 1983: Investigations on the influence of coastal upwelling and polluted rivers on the microflora of the northern Atlantic off Portugal. I. Size and composition of the bacterial population. Bot. Mar., **26,** 137–152.

Sherr, B. and E. Sherr, 1983: Enumeration of heterotrophic microprotozoa by epifluorescence microscopy. Est. Coast. Shelf Sci., **16,** 1–7.

Watson, S. W. 1978: Role of bacteria in an upwelling ecosystem. In "Upwelling ecosystems" eds. R. Boje and M. Tomczak, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 139–154.

山口峰生・安楽正照, 1984：瀬戸内海西部周防灘における基礎生産について. 南西水研報, (17), 135–149.

Zimmermann, R., 1977: Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy. In "Microbial ecology of a brackish water environment" Ecological studies 25, ed. G. Rheinheimer, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, 103–120.

Zimmermann, R., R. Iturriaga and J. Becker-Birck, 1978: Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. Appl. Environ. Microbiol., **36,** 926–935.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab., No. 17, 1984

Chattonella antiqua (Chloromonadophyceae) の形態及び増殖率への塩分の影響

古賀文洋

Influence of salinity on the morphology and growth rate of *Chattonella antiqua* (Chloromonadophyceae)

Fumihiro Koga

The influences of salinity on the growth and morphology of *Chattonella antiqua* were investigated in the laboratory to determine the possible role of environmental change in relation to the initiation of blooming.

Cells cultured in the medium of 32.52‰ and kept at two different temperatures, 18℃ and 25℃, were transferred into 3 degrees of low salinity media. In the medium of 0–5‰, cells turned their shape into spherical type immediately after transfer and then were collapsed. Entire cells were broken within 24hrs in 6–9‰ medium, and about 40% within 24hrs and 60% within 48hrs in 12‰ medium.

Cells continued to survive in 18–31‰ media, and the influence of temperature on the stress was also observed. In 18‰ medium, spindle shaped normal cells changed into oval shape within 2 days, and turned into spherical type after 6 days. In 31‰ medium, the appearance of spindle shaped cells reduced to 70% within 2 days after inoculation, with the mixture of 10% spherical cells. The tendency in 24‰ medium was resemble to the results in 18‰ medium, while the intermediate phenomenon between 18‰ and 31‰ was noticed in 27‰ medium.

The growth rate was estimated depending on the change of salinity and the rate of appearance of the spindle shaped cells. The 30% reduction of salinity induced 45% decrease of normal cells after 24hrs, and 60% decrease after 48hrs at 18℃. The indentical decrease of salinity at 25℃ caused 90% decrease of growth. No growths, without spindle shaped cells, were obtained in the medium with salinity decrease more than 30% of the initial level.

Chattonella antiqua (Hada) Ono は、羽田 (1972) によって広島湾から採集され *Hemieuptreptia antiqua* と命名されたが, Ono and Takano (1980) によって *Chattonella* 属 (Bicheler 1936) に移された種である。本種は播磨灘及びその周辺において赤潮を形成し，大きな漁業被害を与える鞭毛藻である。瀬戸内海の鞭毛藻類は他種，特に珪藻類との競合関係を示し，相互の交替によって増殖し赤潮を形成する（秋月他 1980，小野 1981，竹内 1981，古賀他 1981)。

このような種間関係とともに赤潮プランクトンの変動に関与する諸要因の中で，特に影響の大

1984年6月22日受理，南西海区水産研究所業績第150号，〒739—04，広島県佐伯郡大野町

きいものとして降雨による沿岸域の塩分の急激な変化が考えられる。例えば，古賀他（1981）によると1980年の夏季に2—7日の間隔で140ミリに達する日間最大量を含む大量の降雨が繰り返され，そのため広島湾の塩分値は22—32‰の間を変動し，湾奥部の表層水では一時的に0—10‰まで低下した。このような環境状態のもとで広島湾及び播磨灘の *Chattonella* の細胞は正常な紡錘形よりも球形や楕円形を示す変形個体が多く観察され，かつこの期間を通じて本種の増殖が大きく抑制されたことが報告されている。

このように鞭毛藻類による赤潮の発生と塩分変化との間には重要な関係があると考えられるので，本報では短時間における塩分変化が *C. antiqua* に与える影響を実験的に究明した。なお，塩分と本種の生理特性に関する既往の研究（池田　1971，岩崎　1971，野沢　1978，小野他　1978）の中で前述のような環境急変時の短時間におけるその形態及び増殖率の変化を取扱った研究は見当らない。

本稿について校閲及び懇切な御助言を戴いた本所の上村忠夫所長及び安楽正照赤潮部長に深謝の意を表する。

方　　法

実験に供した *Chattonella antiqua* は，18℃及び25℃の恒温槽に設置した試験管の10mℓの ES 培地（塩分，32.52‰）で培養したもので，全細胞が正常な紡錘形であった。この細胞を0—31‰範囲の各種塩分培地に接種し，接種後数日間の死亡率及び形態変化を通じて短期間の塩分変化に対する *C. antiqua* の適応，すなわち，適応限界，形態変化，増殖率の低下などを追求した。更に，これらの結果にもとづいて降雨などによる自然界での環境変化による *C. antiqua* の増殖への影響について若干の考察を加えた。

なお，実験に当って，適応限界の試験は塩分0—13‰範囲における死亡率により，他方，形態変化並びに増殖率の低下については18—31‰範囲の塩分変化に対する反応にもとづいており，各々3回行った。

結　　果

1. *Chattonella antiqua* の死亡率（培養温度，25°C）

塩分0及び4‰培地（実測塩分　3.6‰）中に接種した細胞はその瞬間に球形に変化し，直ちに壊れ始めた。5‰培地（塩分　4.5，5.1‰）中に接種した細胞は接種2分後に約50%，4分後に100%が壊れた。塩分6.0‰培地中の細胞は接種直後から壊れ始め，死亡率は6分後に50%，30分後に73%，1時間後に95%，2時間後に99.2%になり，3時間後には生残した細胞がなかった。7‰培地（塩分　6.4，7.1‰）中の細胞は接種後直ちに球形に変化した。接種後の死亡率は30分後に10%，4—5時間後に50%，10時間後に80—90%になり，24時間後の生残細胞がなかった。9‰培地（塩分　8.9‰）中の細胞は接種直後，球形に変化したが，接種10時間後においても死亡

しなかった。しかし，13時間後に細胞の13%が壊れており，24時間後には生残細胞がなかった。12‰培地（塩分　11.9‰）の試験では接種後，一時的にすべての細胞が球形になったが，直ちに旧形に復元し始め，真球形細胞は18%であった。この球形細胞の出現率は2時間後に15%になり，この状態が10時間後まで継続し，この間に壊れた細胞はなかった。しかし，24時間後にはその約90%が球形，他の約10%が楕円形に変化し，死亡率は約60%であった（Fig. 1）。

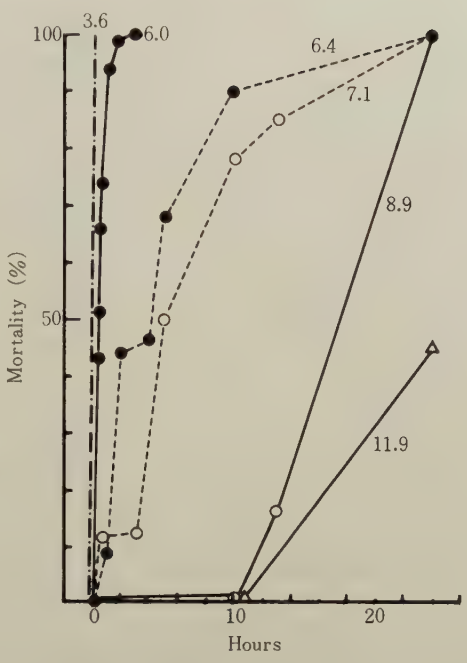


Fig. 1. Mortality of *C. antiqua* in low salintity media. Numerals in figure indicate ‰.

2. *Chattonella antiqua* 形態への塩分変化の影響

C. antiqua の形態変化は環境変化の細胞に与えたストレスの強さを表わすと思われる。

18‰培地（塩分　17.8‰）中に移植した細胞の18℃培養時の変化をみると，紡錘形細胞の出現率は1日後に半数の51%，2日後には32%に減少し，6日後にはほとんどみられなかった。中間形（楕円形）細胞は1日後には43%になり，3日後には66%に増加したが，6日後には球形細胞への変化のために34%まで減少した。球形細胞は接種後2日間では3～9%であったが，6日後には64%に増大した（Fig. 2）。

塩分18‰培地，25℃培養時の細胞形態は18℃培養時同様の傾向を示した。すなわち，紡錘形細胞は1日後に半数の52%，2日後には全細胞が楕円形細胞に変化した。この楕円形細胞は1日後に56%，2日後に92%に増大したが，この形態の細胞は，6日後にはすべて球形細胞に変化し，出現しなかった。反対に，球形細胞は，1日後では3%であり，2日後には16%に過ぎなかったが，6日後には全細胞が球形に変化した。24‰培地（塩分　23.7‰）の25℃における培養では，3日後の事故によって細胞の形態変化の継続観察ができなかった。けれども，この2日間の観察，更に，18℃での培養の結果についてみると，細胞形態の変化は18‰培地培養と同様の傾向を示した。

27‰培地（塩分　26.7‰）培養についてみると接種1日後の紡錘形細胞の出現率は74%であった。けれども，2日後におけるその出現率は18℃培養では54%，25℃培養では22%に低下し，6日後には18，25℃培養とも約10%に減少した。中間形である楕円形細胞の出現率は，18℃培養の1日後には11%であったが，2日後には20-30%に，6日後には40-50%に増加した。球形細胞の出現率は，1日後には約5%，2日後には27%に増加し，この状態が6日後まで継続した。25℃培養における楕円形細胞は，1日後には22%であったが，2日後には53%，6日後には63%に増加した。

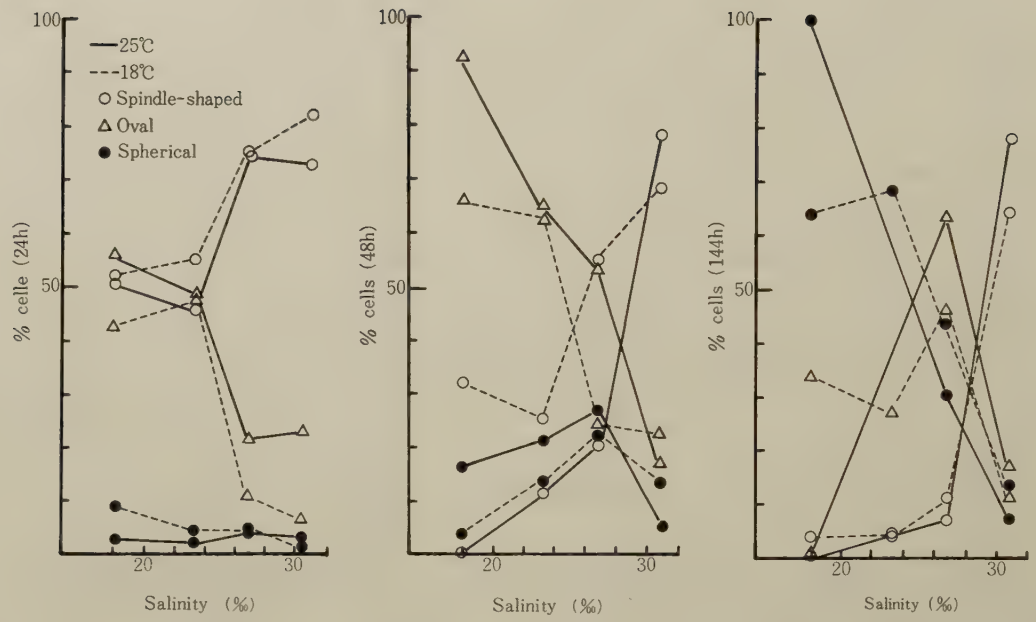


Fig. 2. Morphological variations of *C. antiqua* inoculated in the media of different salinity for the periods of 24, 48 and 144 hrs.

31‰培地（塩分　31.3‰）に32.52‰培地培養の細胞を接種し，その形態変化をみた。18℃培養時の紡錘形細胞の出現率は接種1日後では70—90%，その平均値は82%であり，2日後には68%になり，以後この状態が継続した。楕円形細胞の平均出現率は1日後では7%であり，2日後には22%になり，以後この状態が継続した。球形細胞の平均出現率は1日後でも2%，2日後においても13%であり，以後この状態が継続した。25℃培養時の紡錘形細胞の平均出現率は1日後73%，2日後78%であり，以後この状態が継続した。楕円形細胞の出現率は1日後では23%であったが，2日後には17%になり，以後この状態が継続した。球形細胞の出現率は低く，3-7%であり，この状態は継続した。このように約5%の塩分変化では細胞への接種作業の影響は1～2日間であり，以後，紡錘形細胞の状態で増殖を継続した。しかし，10-20%の球形および楕円形細胞が常に出現したことは，*C. antiqua* の形態に対し検鏡作業などが影響したと考えられる。

以上のように *C. antiqua* 細胞を18-31‰の各種の塩分培地で培養した時，24時間後の紡錘形細胞の出現率は，27-31‰範囲においては70-80%であったが，18‰濃度域では約50%に低下した。中間型の楕円形細胞出現率は27-31‰範囲では10-20%であるが，18‰域では約50%に増加した。この条件における球形細胞の出現率は少なく，10%以下であった。48時間後の細胞形態についてみると，紡錘形細胞の出現率は，31‰域では温度条件と無関係に70-80%であったが，18‰域においては培養温度18℃で約30%になり，25℃には出現しなかった。楕円形細胞の出現率は31‰域では約20%に過ぎなかったが，18‰域においては25℃の培養条件では約90%，18℃の培養条件では約80%であった。球形細胞の出現率は18-31‰の塩分範囲では，18と25℃の温度条件のいずれの場合にも10-30%の出現率であった。このように *C. antiqua* は18‰の低塩分域では培養開始

後48時間に紡錘形から球形に変化する過程の中間形の楕円形へ変化した。144時間の長期培養についてみると，その細胞形態は32.52‰培地における培養温度25℃では約80%，18℃では約70%が紡錘形であり，17.8‰培地における25℃培養ではほとんどの細胞が球形に変化した。しかし，18℃培養では球形細胞の出現率は約60%であり，その他の細胞は楕円形であった。26.7‰培地に接種した時，紡錘形細胞は約10%の出現にすぎず，楕円形細胞が40-60%，球形細胞が30-40%であり，17.8‰と31.3‰培地への移植時の中間的細胞形態の構成を示した。

3. 塩分変化率と増殖率

Chattonella antiqua の個体群には諸種形態の細胞がみられる。例えば，順化し指数増殖期にある細胞はほとんど正常な紡錘形であり，球形細胞はみられない。しかし，環境変化などのストレスが加わった群の球形及び中間形の楕円形細胞出現率は高くなる。このような細胞形態によってその増殖率も異なっている。25℃，33‰の ES 培地で培養中の紡錘形細胞を新しい ES 培地に移植した時，その良好な増殖率は0.5/日であった。同一培養条件の長期培養で球形及び楕円形を示す細胞を新しい ES 培地に移殖しても，この形態の期間には増殖がみられなかった。しかし，この球形細胞群には移植2-3日後に少数の紡錘形細胞の出現がみられ始め，6日後には約70%の細胞が紡錘形に変化した群があり，それらの群の増殖が認められた。したがって，*C. antiqua* 個体群の増殖は事実上紡錘形細胞による増殖とみられる。このことから海水の塩分変化時の *C. antiqua* の増殖率は紡錘形細胞の出現率によって推定される。

C. antiqua の形態変化傾向はその履歴，例えば，順化した培地の種類，温度，塩分などによって異なる。塩分変化に対する *C. antiqua* の反応についてみても塩分濃度に対応した細胞形態の変化傾向はなく，それは経験した塩分，例えば，順化培養した培地の塩分などによって異ってくる。すなわち，*C. antiqua* が経験した順化培地の塩分濃度と新しい培地塩分との濃度差が細胞形態変化に相関を示しており，その差の大きさが細胞に与えるストレスの強さになっている。その点を考慮して，ここでは初期保存培地の塩分（So）（本実験では32.52‰）を基準にし，それと接種培地の塩分（St）との差（So-St）から塩分変化率（S＝So-St/So）を求めた。初期培地に順化し，増殖中の全細胞が正常な紡錘形である *C. antiqua* の増殖能力（M）を1とし，塩分変化率に対応する各種塩分培地に接種した後における紡錘形細胞出現率の変化をみた（Fig. 3）。この増殖能力は紡錘形細胞の初期培地における出現率（Ao）と Si 塩分培地での出現率（Ai）との比 Ai/Ao として変化する。

24時間後における増殖能力（M）と培養塩分変化率（S）との関係をみると，培養温度（18℃，25℃）による差は認められないので，両培養温度による値を混みにしてMとSの間の関係式を求めると，$M=94.6e^{-1.823S}$が得られた。この関係式によれば，*C. antiqua* の増殖能力は塩分変化率0（基準培地 32.52‰）では0.95であり，塩分変化率0.1（培地塩分 29.3‰）では約0.8，塩分変化率0.2（培地塩分 26.0‰）では0.7，塩分変化率0.45（培地塩分 17.8‰）では約0.4に低下する。すなわち，*C. antiqua* の増殖能力は生息環境塩分の10%の低下では80%に，塩分の20%低下では70%に，塩分の50%低下では40%に低下することであり，これらの値から塩分33‰培

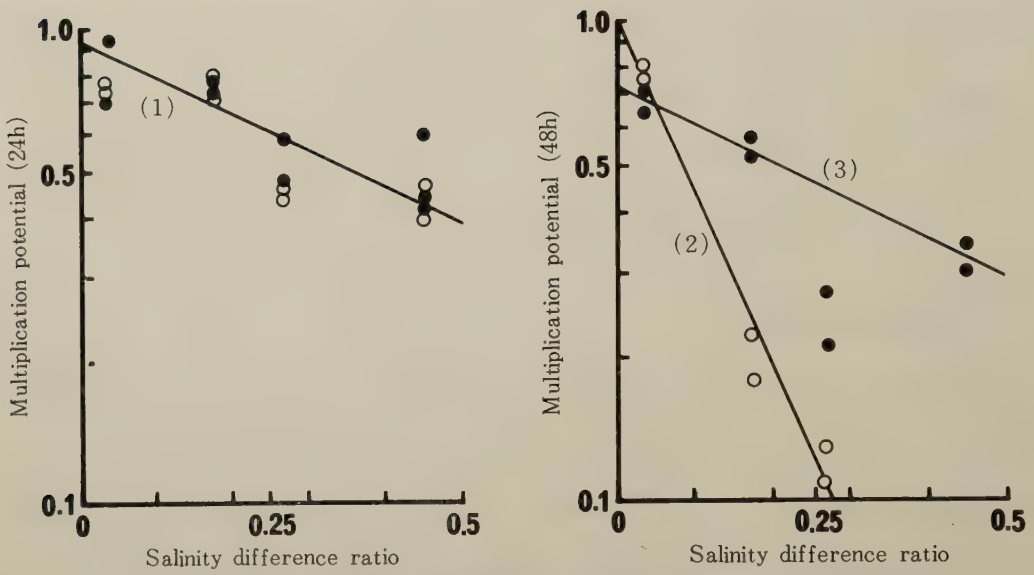


Fig. 3. The relationships between multiplication potential (M=Ai/Ao, Ai: appearance ratio of normal cells at Si; Ao: appearance ratio of normal cells at So) of *C. antiqua* and salinity difference ratio (So-Si/So, So: initial salinity; Si: changed salinity). Open circle: 25°C culture; Solid circle: 18°C culture; (1): $M=94.6e^{-1.823S}$ (2): $M=74e^{-1.877S}$; (3): $M=100e^{-8.303S}$

地における平均増殖率0.5/日を基礎として増殖率を求めると，0.4，0.35，0.2（一日当り）が得られる。

培養塩分変化の48時間後における *C. antiqua* の増殖能力については培養時の温度条件が大きく影響している。この原因については後に言及することとし，ここではとりあえず培養温度別に関係式を求めると，培養温度18℃における増殖能力(M)と塩分変化率(S)は $M=74.0e^{-1.877S}$ の関係式で表わされる。ただし，この関係式の算出に当っては，塩分変化率0.27（塩分23.7‰）に対応するMの値（2個）がいずれも異常に低く，この塩分での実験において検鏡計測時の作業に失敗のあった可能性が大きいと判断されるので，これら2個の値を除外して求めた。この関係式から *C. antiqua* の増殖能力は，塩分変化率0.1（培地塩分 29.3‰）では0.6，塩分変化率0.2（培地塩分 26.0‰）では0.5，塩分変化率0.45（培地塩分 17.8‰）では0.32である。すなわち，*C. antiqua* の増殖能力は，18℃培養時の生息環境塩分の10%低下によって48時間後では60%に，塩分の20%低下では50%に，塩分の50%低下では30%に低下することを示しており，塩分変化前の基準培地（塩分33 ‰）における増殖率0.5/日はそれぞれ0.3，0.25，0.15（一日当り）に低下する。

培養温度25℃における *C. antiqua* の増殖能力は塩分変化の増大と反対に急激に低下しており，その関係は $M=100.0e^{-8.303S}$ の式で表わされる。この式から *C. antiqua* の増殖能力は，塩分変化率0.1では0.45，塩分変化率0.2では0.2，塩分変化率0.27では0.11になり，塩分変化率0.3以上（塩分 22.8‰以下）では紡錘形細胞の出現は認められない。すなわち，その増殖能力は，塩分の10%低下では50%に，塩分の20%低下では20%に，塩分の30%低下では10%に低下し，それ以下

では増殖能力は0に等しく，初期の増殖率0.5/日はそれぞれ0.225，0.1，0.055になり，23.7‰への変化では約20日間に1回の分裂になり，22.8‰以下への変化では分裂は起きない。

以上のことから *C. antiqua* の増殖は，18℃より25℃の温度が適し，逆にこの好条件で環境変化の影響を大きく受け易いことを示している。

考　　察

Chattonella antiqua の栄養細胞は環境変化の影響を受け易い特性があり，それは細胞形態の変化にも現われる。この特性を考慮し，本研究では塩分変化に対する形態変化を試験し，その特性を追求した。塩分32.52‰の培地で培養した *C. antiqua* 細胞は，9.0‰以下の培地に接種された時，直ちに壊れ始め，24時間には完全に死滅した。*C. subsalsa* も塩分約10‰では48時間に完全に死滅することが報告されている（Biecheler, 1936）。*C. antiqua* 栄養細胞の48時間の半致死塩分は約13‰であった。本種は塩分18‰の培養では全細胞が球形に変化しており，この状態から環境に適応して再び増殖型の紡錘形細胞になるには長時間を要するものと考えられる。塩分22‰の淡水添加培養液で培養した *C. antiqua* も，小野ら（1978）によると高鹹培地培養に比較し，培地への適応，増殖にかなりの期間を要している。塩分27‰培地培養では2～6日間にその細胞の5～6割が中間型の楕円形に変化しており，この期間が塩分変化に対する本種の適応期間であり，それは約1週間を要するものとみられる。初期条件に近い塩分31‰培地への接種では，本種の細胞形態が紡錘形から楕円形，球形に一時的に変化するが，24時間後にはほとんど原形に復し，その適応期間は約2日とみられる。

播磨灘北部の植物プランクトンは渦鞭毛藻—珪藻—*Chattonella antiqua*—渦鞭毛藻の順に優占種が変化する傾向を示す（小野　1981）が，1980の夏季には *C. antiqua* などの渦鞭毛藻が増殖せず，珪藻類の *Skeletonema* が卓越した。この年の夏には水温が平年より1～3℃低いこと以外，栄養塩，水温，照度などは藻類増殖に充分であった（古賀・村上　1981）が，夏季の降雨量は多く，またその間隔も短かった。そのため，*C. antiqua* には本研究におけるその特性からみて環境の塩分変化に対する適応期間がなかったものと考えられる。もしこの期間が充分にあれば，*C. antiqua* は低塩分においても増殖する種であり（池田　1971，岩崎　1971，野沢　1978，小野他　1978），更に，1969及び1970年の広島湾のように降雨後にその増殖がみられた事例（木村他　1973）もある。この他，湾奥及び沿岸域に出現し，赤潮を形成する鞭毛藻類の *Heterosigma*, *Olisthodiscus* などの増殖時における3-7日前における降雨が観察されている（飯塚　1968，岩崎　1968，Mahoney et al　1979，Tomas　1978）。

このような環境変化に対する *C. antiqua* 群の適応期間の増殖率は，その変化前の増殖率と変化後の増殖能力（M）の積である。例えば，*C. antiqua* 増殖率は培養系では今井（1982）と本報，自然環境では吉松（1979）の報告から0.5とみられる。これから水温25℃の時，*C. antiqua* の環境の塩分が約10%低下した時，その増殖率は24時間後には40%に，48時間後には25%に低下すると考えられる。降雨後，海域の塩分低下及び回復の状態は降雨量に関係した再現性があり，

この海域の特性を把握しておけば，その海域における *C. antiqua* の出現数及び細胞形態からその個体群の短期変動が予測できると考えられる。

摘　　要

赤潮生物の増殖と降雨間に複雑な関係がみられる中で，環境の塩分変化について *Chattonella antiqua* の形態と増殖への影響を実験的に究明した。

各種塩分培地に接種した *C. antiqua* 細胞（保存培地塩分 32.52‰，水温 18℃と25℃）は，0～5‰培地では直ちに球形に変化し，壊れ，6～9‰培地では24時間内に全細胞が，12‰培地では24時間に約4割，48時間に約6割が死滅した。

塩分18～31‰培地培養では細胞は死滅せず，そのストレスに温度の影響がみられた。18‰培地の紡錘形細胞は2日間に楕円形に，6日後には球形に変化した。31‰培地では接種後2日間に紡錘形細胞の出現率は約7割に低下し，これと球形細胞1割の状態が継続した。*C. antiqua* は24‰培地では18‰培養の傾向を，27‰培地では18と31‰培養の中間の傾向を示した。

C. antiqua の増殖率を塩分及び紡錘形細胞出現率の変化によって推定した。この増殖率は，塩分の約3割低下の時，24時間に初期の5.5割に，48時間の18℃培養では約4割に低下する。48時間の25℃培養では塩分の3割低下の時，その増殖率は1割になり，3割を超す塩分低下では紡錘形細胞が出現せず0に等しくなった。

文　　献

秋月友治・北角　至・佐々木正雄，1980：播磨灘南部海域における赤潮発生環境に関する研究．大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究，昭和54年度研究成積報告書，南西水研他，pp. 71–84.

Biecheler, B., **1936**; Sur une Chloromonadine novelle d'eau saumatre *Chattonella subsalsa* n. gen., n, sp.. Arch. Zool. Exper. Gen., **78**(2), 79–83.

羽田良禾，1972：広島沿岸域の赤潮プランクトン（鞭毛虫類について）．広島水試，28pp.

飯塚昭二・入江春彦，**1968**：1966年長崎県下に発生した赤潮現象と赤潮プランクトン *Olisthodiscus* の生態観察．長大水産学部研究報告，**26**，25–35.

池田武彦，1971：赤潮プランクトンに関する研究—Ⅲ　海産ミドリムシの栄養生理について．山口内海水試報告，**2**，4–7.

今井一郎，1982：増殖促進に有効な物質の赤潮生物への取り込みに関する研究—赤潮生物の増殖と海洋細菌の関係—．大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究，昭和58年度研究成績報告書．南西水研他，pp. 77–86.

岩崎英雄・藤山虎也・山下英次，1968：赤潮鞭毛藻に関する研究—Ⅰ．福山沿岸水域に出現した *Entomosigma* sp. について，広大水畜産学部紀要，**7**(2)，259–267.

木村知博・溝上昭男・橋本俊将，1973：漁業被害をもたらした広島湾の赤潮：その発生状況と発生環境，日本プランクトン学会誌，**19**(2)，82–112.

古賀文洋・村上彰男，1981：発生前及び極初期におけるプランクトンとその現象に関する研究．大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究，昭和55年度研究成績報告書，南西水研他，pp. 7–17.

MAHONEY, J. B. and J. J. A. MCLAUGHIN, 1979; Salinity influence on the ecology of phytoflagellate blooms in lower New York Bay and adjacent waters. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 37, 213–223.

野沢治治, 1978：赤潮生物の生理生態学的研究　1．鹿児島湾の赤潮鞭毛藻 *Hornellia* sp. の生育条件．鹿児島湾赤潮発生原因調査研究報告書—昭和52年6月発生の *Hornellia* 赤潮—．pp. 69–76.

小野知足・吉松定昭・山田達夫, 1978：ホルネリアの生育条件と形態．昭和52年度に発生したホルネリア属赤潮に関する総合調査報告書．pp. 35–51.

ONO, C. and H. TAKANO, 1950: *Chattontlla antiqua* (HADA) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. Bull. Tokai Reg. Fish. Lab., 102, 93–99.

小野知足, 1981：1979年夏の *Chattonella antiqua* (HADA) ONO 赤潮発生前後の植物プランクトン相の変動．昭和54年度赤潮予察調査報告書，水産庁他，pp. 11–14.

竹内照文・芳養晴雄, 1981：田辺湾の赤潮—I　発生傾向と環境について．昭和54年度赤潮予察調査報告書，水産庁他．pp. 59–74.

TOMAS, C. R., 1978: *Olisthodiscus luteus* (Chrysophyceae) I. Effects of salinity and temperature on growth, mortality and survival. J. Phycol., 14, 309–313.

吉松定昭, 1979：赤潮時の平均世代時間．昭和53年発生ホルネリア赤潮に関する調査報告書，香川県．pp. 57–63.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

瀬戸内海におけるクロマグロ幼魚の飼育について*

岡本　亮・松永浩昌
船江克美・久岡　実

Study on the Rearing of Young Bluefin Tuna *Thunnus thynnus orientalis* (Temminck & Schlegel) in Seto Inland Sea.

Ryo Okamoto, Hiroaki Matsunaga
Katsumi Funae and Minoru Hisaoka

The young bluefin tuna "Yokowa", after transport by the ship from Tosa Bay, have been reared three times from 1980 to 1982 for the first time in Seto Inland Sea, near the Nansei Reg. Fish. Res. Lab..

The following results were gained.

1. It's possible to rear "Yokowa" in Seto Inland Sea from summer to the end of the year.
2. In the case of 50 ton tank on land, the average fork length of "Yokowa" was 42cm, body weight was 1.6kg at the end of the experiments (4 months later). Nearly the same result was obtained in the cage of raft at sea. And the biggest one attained to 46cm FL, 2.3kg BW. Regression line between the growth and the rearing day is revealed as follows, $BL=18.49+2.11t$, $BW=30.20+14.23t$ (BL; body length, BW; body weight, t; rearing days). These values are remarkably larger than that of yellowtail, about 1kg BW, and this fact indicates the big potential of growth "Yokowa" has.
3. Food conversion efficiency was about 20%, and food guotient 5, which are also better than that of yellowtail in the same area.
4. Daily feeding rate were 20-30% in the warm season, and 1-3% in the cold season. Feeding activity was observed at 12°C in the cage of raft, but fell down markedly below 14°C.
5. Survival rate were 6-8% in the 50 ton tank, and about 16% in the cage of raft at the end of the experiments. Low temperature is supposed to be the main cause of these bad results. So it is nesessary to improve the technique of acclimation for realizing high survival.

クロマグロ *Thunnus thynnus orientalis* (Temminck & Schlegel) 幼魚（ヨコワ）の飼育試験が開始されたのは1960年代であった（井上ら，1967）が，ヨコワの本格的な養殖技術開発試験が実施されるようになったのは1970年代以降，遠洋水研を中心に，東海大学・近畿大学・静岡水試・三重県尾鷲水試および長崎水試など6機関による「マグロ類養殖技術開発企業化試験（水産庁・調査研究部，1970—'73）が開始されてからのことであり，これらの経いについては，上柳他（1973）や原田（1978,1980）などによって詳しく報告されている。

1984年6月23日受理，南西海区水産研究所業績第151号，〒739—04，広島県佐伯郡大野町
*本研究はマリンランチング計画に基づいた成果である。MRP I—3—(1)

マグロ類は，一般に広域大回遊型で運動性に富み，酸素要求量も大きく，かつ皮膚が弱く，手や網で触れると，容易にその影響を受けてへい死することから，その飼育はほとんど不可能に近いと考えられていた。

しかしながら，クロマグロは，その主要分布域が日本近海であり，経済価値が高く需要も大きいことから，前掲の各機関によって飼育が着手され，研究が進められてきた。そうして，その結果得られた「例年の初夏に日本列島へ接岸するヨコワを起点（種苗）として，冬季まで，あるいは越年飼育することが可能である。」というこれらの知見は，マグロ類の実験生態学的研究を著しく進展させたのみならず，その後二つの新しい方向への展開を可能にした。すなわち，ひとつは年間の生産量が15万トン（1981）にも達して価格不振がきびしい養殖ハマチの代替種，養殖対象新魚種開発としての取り組みであり，※更にひとつはマリンランチング計画（近海漁業資源の家魚化システムの開発に関する総合研究）へのクロマグロ導入である。

本研究はマリンランチング計画の一環として，瀬戸内海でヨコワの環境馴致を行ない，長期間飼育の可能性を検討することと，その間における成長・肥満，餌料転換効率，歩留りなどの点を明らかにすることを目的としたもので，従来，クロマグロの未生息海域である瀬戸内海で，ヨコワを飼育した結果，２，３の知見を得たので報告する。

※ 高知県柏島・浜野氏，静岡県田子・椿氏などによるヨコワの養成・出荷の事例があり，共に優良種苗の計画的確保があれば，企業としての養成も可能であろう――としている。

材料と方法

材料　供試魚は，1980年から'82年に至る各年度の初夏に，高知県沿岸へ接岸したヨコワを，現地高岡郡上ノ加江の業者に依頼して曳縄で採捕したものであり，それらの採捕時期並びに魚体の大きさなどは，**Table 1** に示す通りである。

Table 1. Time of capturing bluefin tunas and their body size.

Year	Time of capturing	Body size (Mean±SD)		Number of fish measured
		Fork length (cm)	Body weight (g)	
1980	7/18—7/30	20.0	138.2	42
1981	7/31—8/2	21.8±1.1	149.4±24.7	27
1982	8/12—8/13	19.5±0.7	111.7±22.1	16

方法　現地の漁業者に依頼して採捕したヨコワを，上ノ加江漁協地先に設置した小割生簀網に収容して餌付けを行ない，餌付けが完了した段階で瀬戸内海へ搬入した。

搬入には５トン（９～10ノット）の活魚船を用いて強制換水とし，夜間は点灯（100W）した。

飼育試験は南西海区水産研究所の陸上50トン水槽（φ５m×2.6m）と因島市重井町地先海面

に設置された小割生簀網（8×8×6m，容積384m³）の2か所で行なった。

調査項目はヨコワの行動，成長・肥満，餌料転換効率，生残率などの他，水温，塩分量，溶存酸素量などの環境条件とした。

また，投餌率ならびに餌料転換効率・増肉係数などの算出には以下の式を用いた。

$$\text{日間投餌率：}\ D=\frac{Fia}{\frac{Wi+Wi-1}{2}\times\frac{Ni+Ni-1}{2}}\times 100$$

D：日間投餌率（%）

Fia：第 i 旬における日平均投餌量（g/日）

Wi：第 i 旬末での平均魚体重（g）

Ni：第 i 旬末での現存尾数（尾）

$$\text{餌料転換効率：}\ E=\frac{Wt\times Nt-Wo\times No+\sum_{o}^{t}Wid}{\sum_{o}^{t}Fi}\times 100$$

$$\text{増肉係数：}\ R=\frac{\sum_{o}^{t}Fi}{Wt\times Nt-Wo\times No+\sum_{o}^{t}Wid}$$

E：餌料転換効率（%）

Wt：取り揚げ時の平均魚体重（g）

Wo：飼育開始時の平均魚体重（g）

Wid：第 i 旬中，死亡魚体重の合計（g）

Fi：第 i 旬中，投餌量の合計（g）

Nt：取り揚げ時の現存尾数（尾）

No：飼育開始時の現存尾数（尾）

R：増肉係数

結　　果

餌付け試験　高知県上ノ加江地先海域へのヨコワの接岸は，例年7月上旬から下旬へかけての約1か月間であるが，1982年は全国的な異常気象（冷夏）のため，ヨコワの接岸が例年よりも約1か月近くも遅れ，かつ全体的に不漁であった。1981年の遅れ（**Table 1**）は，いったん採捕収容後，台風によって生簀網が破損して供試魚がへい死，あるいは逃逸したために，特に依頼して再採捕したことによる遅れであり，接岸時期や漁期の遅れではない。

曳縄で採捕された平均尾叉長20cm・体重140g前後のヨコワは，生簀網に収容後，餌料としてイカナゴを用いれば，通常2～3日間で餌付けを完了する。しかしながら，魚体の疲労や損傷の

度合が大きい場合は餌付けが困難であり，収容後３日間を経過してなお，餌付けの完了できない群は，その後の成長・肥満や生残率などが著しく悪い。

餌付け終了時におけるヨコワの生残率は，初年度の38.3％に対して，次年度が44.8％，３年目は62.2％と年次毎に上昇した（**Table 2**）。

輸送試験　ヨコワの餌付け海域と飼育海域の位置関係，並びに各年度の輸送経路を **Fig. 1** に示した。また，輸送経路における活魚槽内の環境条件は，**Table 3** および **Fig. 2** の如く推移した。

1980，'81両年度共，活魚槽内のDOは常時4.6～5.6ml/l，pH は8.0～8.3の範囲にあって，水替りの良いことを示している。

輸送中の水温範囲は27.8℃から20.8℃に亘り，海域による差異は1980年が6.1℃，'81年は5.8℃とかなり大きい。'80年の St. 3 の塩分量については，大量降雨直後の河口沖であったために，St. 2（1.5h前の塩分量）に較べて８‰もの急激な下降があったが，このためにヨコワが，特に変った行動を示すようなことはなかった。1981年の St. B 及び St. C は広島湾奥部（退

Fig. 1. Situation of preliminary and regular rearing, and routes of transport.
(0) Kaminokae: Preliminary rearing place
(B) Ohono: Rearing place in the 50 ton tank on land
(18) Koboso Is.: Rearing place in the cage of raft at sea

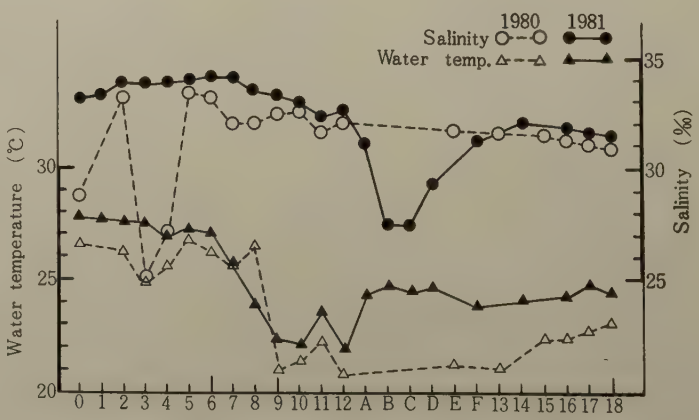


Fig. 2. Changes of environmental conditions during transport.

Table 2. Results of preliminary rearing for recovery.

Year	Days nesessary for recovery (days)	Number of fish		Survival rate (%)
		beginning	end	
1980	5 — 7	400	153	38.3
1981	2 — 3	400	179	44.8
1982	2 — 3	370	230	62.2

Table 3. Environmental conditions during transport.

St. NO.	1980 Time	W.T. (℃)	Sal. (‰)	pH	DO (ml/l)	1981 Time	W.T. (℃)	Sal. (‰)	Plankton (Dominant species)	Area
0	8/7 10 : 45	26.6	28.80	8.2	5.61	8/11 13 : 35	27.8	33.06	Stringy sea wead	the Pacific Ocean
1						13 : 40	27.7	33.31		
2	12 : 40	26.3	33.33	8.0	4.72	15 : 05	27.6	33.86	*Chaetoceros coarctatus*	
3	14 : 10	25.0	25.17	8.2	5.10	16 : 40	27.6	33.86		
4	14 : 45	25.7	27.20	8.2	5.48	17 : 35	27.1	33.86	(an index species of the ocean)	
5	16 : 20	26.9	33.46	8.2	4.79	19 : 05	27.4	34.04		
6	17 : 10	26.3	33.17	8.3	4.79	20 : 07	27.1	34.13		
7	19 : 00	25.7	32.11	8.2	4.73	21 : 50	25.7	34.20	Decrease of seaweed	Uwa kai
8	20 : 15	26.5	32.11	8.2	4.85	23 : 20	24.0	33.50	Increase of crustacean	
9	21 : 18	21.0	32.45	8.2	4.73	8/12 0 : 34	22.4	33.35	*Noctiluca Microsetella*	
10	22 : 00	21.5	32.63	8.2	4.87	1 : 30	22.2	33.01	*Ceratium* spp.	Suo Nada
11	8/8 0 : 35	22.3	31.74	8.3	5.31	3 : 30	23.7	32.30		
12	2 : 10	20.8	32.14	8.2	4.82	4 : 50	22.0	32.61	Larvae of crustacean	
13	4 : 10	21.4	31.83	8.1	5.01				*Coscinodiscus* spp.	Aki Nada
14	5 : 10	21.2	31.69	8.2	4.72					
15	5 : 50	22.5	31.56	8.1	4.93				*Thalassiothrix* spp.	
A						7 : 05	24.4	31.20		Hiroshima Bay
B						9 : 00	24.8	27.45		
C						9 : 30	24.6	27.45		
D						10 : 20	24.8	29.42		
E						11 : 50	23.9	31.37		
F						13 : 10	24.2	32.09		
16	6 : 25	22.5	31.42	8.0	4.59	14 : 25	24.3	31.91		Hiuchi Nada
17	6 : 45	22.8	31.15	8.0	4.68	14 : 55	24.9	31.64	*Noctiluca* sp.	
18	8 : 00	23.2	30.95	8.1	4.63	15 : 30	24.5	31.46		

潮時）であるための下降である。

ヨコワの輸送成績は，初年度（1979）の生残率72.5%に対して，２年度と３年度はそれぞれ96.6%と94.8%であった（**Table 4**）。

Table 4. Results of transport.

Year	Body size (Mean)		Time (hours)	Number of fish transported		Survival rate (%)
	BW(cm)	FL(g)		start	arrival	
1980	20.0	138.2	21	153	111	72.5
1981	21.8	149.4	26	179	173	96.6
1982	19.5	112.7	24	230	218	94.8

飼　育　試　験

1．陸上50トン水槽による飼育　水研構内に在る50トン水槽に，(a)水槽内壁面へ10cmの間げきができるように黒色のビニール・シートを張り，(b)天井はスレート板と網で覆った。a は収容時や摂餌時などの突発的な直進遊泳による壁面衝突と，そのことによるヨコワの死傷を防ぐためであり，b は飛び出しを防ぐためであったが，これらの方法は共に有効であった。

給水には濾過海水(カキ殻と細砂)を用い，換水率は成長に応じて２～４回転/日とした。餌料には主として冷凍イカナゴを使用し，１日２回（９時・16時）飽食させた。

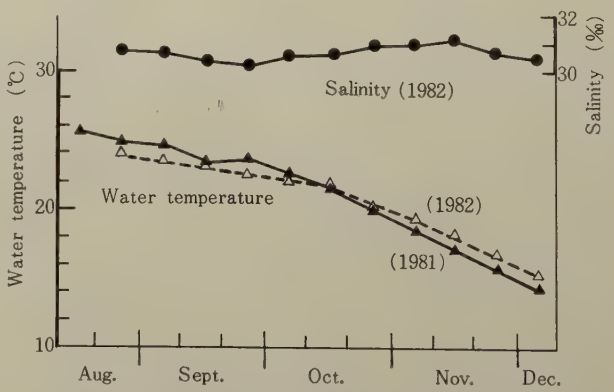


Fig. 3. Changes of water temprature and salinity in the 50 ton tank.

（1）　飼育環境　８月から12月に

Table 5. Environmental conditions in the period of rearing. (Aug. - Dec. 1981, 1982)

Item	50 tons tank	Cage of raft
W. T. (℃)	12.4 — 25.6[1)]	13.1 — 28.2
Salinity (‰)	26.0 — 31.4[1)]	26.5 — 31.3
pH	7.4 — 8.3[1)]	7.6 — 8.3
DO (ml/l)	4.2 — 5.5[1)]	4.2 — 5.6
TD (m)	1.2 — 1.9	0.9 — 3.2
Water flow (round/day)	2 — 4	——

[1)] By the series records of automatic measuring instrument. No mark indicates the data of observation at nine o'clock every day. On 12th September 1982, data was not obtained because of the power failure caused by the typhoon.

おける飼育試験期間中の環境条件範囲を **Table 5** に示した。また，水温と塩分量の変化は **Fig. 3** に示す通りであり，この範囲においては特に問題はない（1982年９月12日については後述）。

（２） 飼育結果　陸上50トン水槽に50尾収容（1981）と100尾収容（1982）した場合の飼育結果を一括して **Table 6** に示した。

Table 6. Results of rearing in the pond and cage.

Duration of rearing		50 ton tank		Cage of raft	
		1981 8/12—12/4	1982 8/19—12/10	1981 8/12—12/9	1982 8/19—12/7
(days)		115	114	120	111
At the beginning	Total weight (g)	7470.0	11270.0	18376.2	13298.6
	Number of fish	50	100	123	118
	Body weight (Mean g)	149.4	112.7	149.4	112.7
	Fork length (Mean cm)	21.8	19.5	21.8	19.5
At the end	Total weight (g)	4119.9	13085.6	27460.0	32165.1
	Number of fish	3	8	20[1]	19[2]
	Body weight (Mean g)	1373.3	1635.7	1373.0	1692.9
	Fork length (Mean cm)	40.1	42.2	40.0	43.0
Survival rate (%)		6.0	8.0	16.3	16.1
Amount of food (kg)		86.13	149.07		
Increased body weight (kg)		15.73—23.34	28.00—35.20		
Food conversion efficiency (%)		18.3—27.1	18.8—23.6		
Food guotient		3.7—5.5	4.2—5.3		

1. Presumed with the eyes.
2. 14 individuals were released after tagging and 5 individuals were reared continuously.

1981年は８月12日～12月４日の115日間に亘って飼育した結果，平均尾叉長40cm，平均体重1.37kgを得た。また，1982年は８月19日～12月10日の114日間に亘って飼育した結果，平均尾叉長42cm，平均体重1.64kgを得た。なお，この年度の最大魚体は45cm，1.94kgであった。

飼育期間中の総投餌量は1981年が86kg，'82年が149kgであり，増重量はそれぞれ15.73～23.34kgと28.00～35.20kgであった。したがって各年度における餌料転換効率は18.3～27.1%（'81）と18.8～23.6%（'82）となり，増肉係数は3.7～5.5（'81）ならびに4.2～5.3（'82）となる。

生残率は1981年が６%，'82年が８%と共に著しく低い。

2. 海面生簀網による飼育　海面生簀網を設置した広島県因島市重井町地先の小細島湾入部は，過去10余年間に亘ってハマチ・クロダイ・トラフグなどの養殖が行われた海域であり，恵まれた地形で，台風時においても生簀網が破壊されたり，流失したりするおそれがほとんどない静穏な海域である（**Fig. 4**）。

この海域は，干潮時にはほとんど干出する砂浜に続く水深10～14mの落ち込みで，筏設置場所の底質は貝殻まじりの砂泥であるが，長期間に亘る漁場利用によって，飼育試験生簀網の下には，残餌やハマチの排泄物などがかなり堆積している。しかし，**Fig.4** に示す地形条件から，潮汐流による水替りが良いために，DO は常時４ml/l以上の状態が維持されており，DO 不足によっ

てヨコワがへい死した事例はない。

（1） 飼育環境　1981と'82年の8～12月における水温，塩分，pH，DO 等の測定結果（毎日9時観測）から，各項目毎に最高値と最低値を **Table 5** に示した。

（2） 飼育結果　1981年と'82年の飼育結果を一括して **Table 6** に示した。

1981年は8月12日～12月9日の120日間に亘って飼育した結果，平均尾叉長40cm，平均体重1.37kg（尾叉長・体重共に陸上水槽の結果と同じ）を得た。また，1982年は8月19日～12月7日の111日に亘って飼育し，平均尾叉長43cm，平均体重1.69kgを得た。なお，この年度の最大魚体は46cm，2.3kgであった。

生残率は1981年，'82年共に16%であった。

1982年は，このうち14尾を生簀網設置海域へ放流し，残りの5尾を越冬試験用として継続飼育したが，翌1983年1月20日の観測では遊泳個体5尾が確認されたものの，2月21日の調査時には確認不能であり，この間にすべての魚体がへい死したものと思われる。

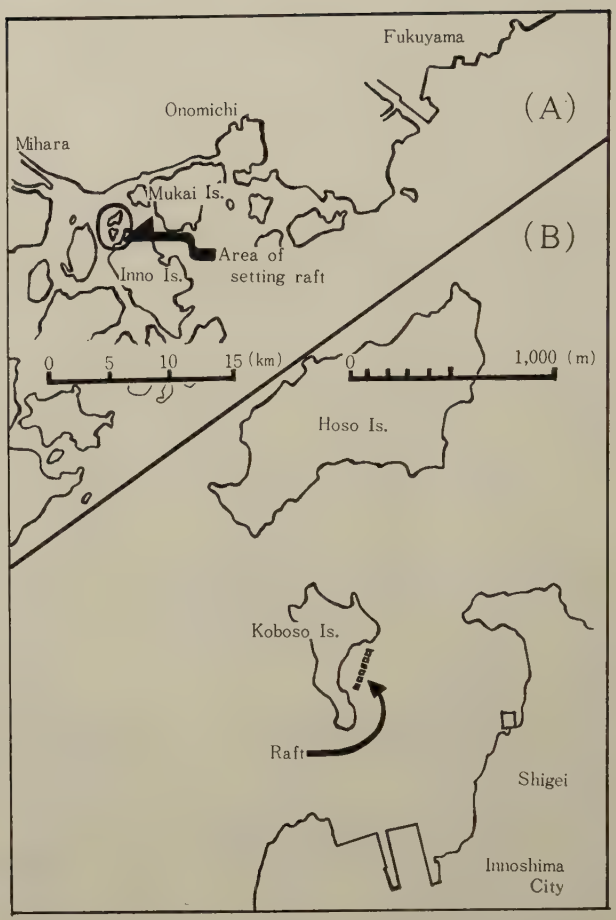


Fig. 4. Showing the area of setting raft (A), and magnifying the area (B).

考　　察

餌付け　採捕されたヨコワを餌付けする場合，餌付け所要日数と生残率との間にはほぼ逆比例の関係が見られる。すなわち，餌付け対象魚の疲労や損傷の度合が大きいほど，餌付けは困難であり，その後の減耗が大きい。こうした傾向はマダイ・クロダイ・ハマチ・トラフグ等，他の魚種においても見られる傾向であるが，ヨコワの場合は特に顕著である。例えば，釣針にかかった魚体をとりはずすために手で直接握ると，握った個所の皮膚が変色し，生簀網に着生したカキやフジツボなどに接触すると，その個所に生じた傷がいつまでも回復しないまま，結局はへい死する事例が多い。

1980年に得られたこうした知見から，次年度以降は釣針のカエシを除去したり，水槽や生簀網

への移し替え時にはできる限り，直接魚体に触れることを避けるなど改善した結果，初年度の生残率38.3%に対して，次年度が44.8%，3年目は62.2%となったことから，採捕方法やその後の取扱いを適正にすれば，モジャコの場合と同様に70～80%の生残率も可能であろうと考えられる。

輸送　高知県上ノ加江から広島県因島市重井町地先海面まで，約200浬を1昼夜前後要して輸送した場合の生残率は，初年度の72.5%に対して，次年度と3年目はそれぞれ96.6%と94.8%であったことから，250尾（魚体総重量約35kg）程度のヨコワ輸送には密度，溶存酸素量その他の点から，5トン前後の活魚船による前記方法で特に不都合はないと考えられた。ことに水温で5.8～6.1℃，塩素量で6.8～8.3‰の較差があったにもかかわらず，そのことに由来すると思われるへい死個体が全く見られなかった点は，環境馴致や養成を企図する立場から注目に値する。

飼育　(a)生残率　陸上50トン水槽で飼育した場合の生残率は6～8%（**Table 6**）であり，マダイ・クロダイなど，他の魚種と比較して甚だ低い。生残率の推移は **Fig. 5** に示すように，減耗は何れも収容直後に大きく（当初の20～30日の間に約半数に低下する），その後は安定する。この傾向は陸上水槽に限らず，海面生簀の場合も同様であるが，陸上水槽における1982年の生残率が，前年度の生残率よりも劣ったのは，初期の減耗が終って安定した収容後24日目（9月12日）に，台風による給水ポンプの故障で，一度に32尾（収容尾数の32%）がへい死したためである。

なお，この時，自動観測装置も作動を停止したために **DO** の記録はない。へい死魚体はいづれも著しく退色し，大きく開口して鰓蓋を極端に開いており，典型的な酸欠死の症状を示していた。従って，仮にポンプの故障による大量へい死を免れたものとし，その後の減耗率が **Fig. 5**（1982）の経過と同様であったと仮定すると，**Fig. 5** の二重線で表わす生残曲線が得られ，最終的に25尾（25%）の生残が見込まれたことになる。

陸上水槽の生残率6～8%に対して，海面生簀網では，1981，'82年共に16%台であったが，水温条件に恵まれた外海域では，何れも50%程度の生残率が見込まれている（静岡水試1976，鹿児島水試1976，高知水試1981）ことと考え合せると，今回の生残率は著しく低い。

このことは，マグロ類の中ではクロマグロが，最も適応温度範囲が広く，かつ，低水温にも適応し（久保1961），高知沿岸に接岸したヨコワが三陸・北海道にまで達する（山中1982）程の生態的特性をもつとしても，なお，クロマグロが本来，暖海

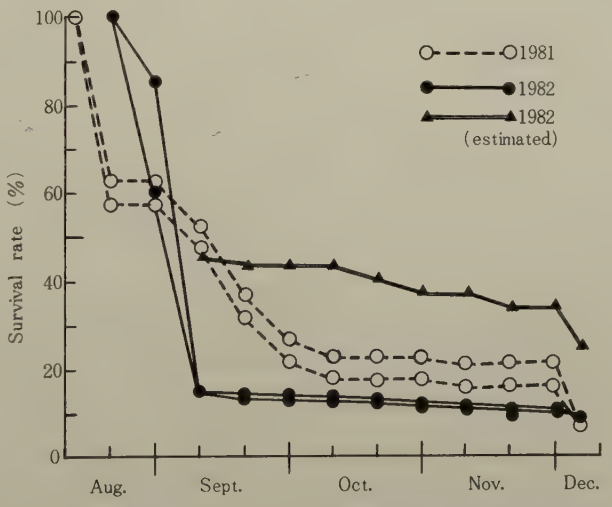


Fig. 5. Changes of survival rates in the 50 ton tank. The reason of two lines in each year is that the date of some fish's death was not confimed. If not the trouble caused by the typhoon (1982), the survival curve is estimated as the double line with triangles.

性の魚種であることを示していると考えられるし，低水温・低塩分の瀬戸内海では，海域を選んで，生簀網の規模を現在の数倍に拡大するとか，中層飼育方式を開発するなど，根本的な改善を図らない限り，効率的飼育には無理があることを示唆していると言えよう。

（b） 成長・肥満　ヨコワを陸上水槽で飼育した場合の成長は，115日間飼育（1981）で，22cm・149gが40cm・1.37kgに，114日間飼育（1982）の場合，20cm・113gが42cm・1.64kgに達した。海面生簀網では120日間飼育（1981）で22cm・149gが40cm・1.37kgに，111日間飼育(1982)で20cm・113gが43cm・1.69kgになった。加えてこの間の最大魚体は，陸上水槽で45cm・1.94kg，海面生簀網では46cm・2.3kgであったことなどから，年内の成長・肥満という点からみると，同一海域におけるハマチの成長・肥満0.9～1kgと比較した場合，極めて効率が良い魚種であると言える。

しかしながら，瀬戸内海と較べて周年に亘って水温が高い高知では，12月下旬(5か月間飼育)に約3kgまで養成しているし（広田他1976），静岡・三重でも，それぞれ2.8kg・2.5kg（静岡水試1976，津田他1982）という結果を得ているので，これらの成長・肥満と比較した場合には，明らかに劣っていると認めざるを得ない。

一般に魚類は，好適水温範囲内であれば，水温が高い程摂餌量が大きく，成長・肥満も速いが，逆に水温が下降すれば摂餌量は減少して，成長・肥満は抑制される。通常，高水温海域を回遊するヨコワの場合は，この傾向が特に顕著であるから，高知や静岡・三重などとの成長・肥満の差異は，主として水温に由来するものと考えられた。このため，50トン水槽における飼育期間中の水温を毎日午前9時の測定値で積算すると，1981年が2456.7℃・日(115日間・平均水温21.4℃)，1982年が2382.0℃・日（114日間・平均水温20.9℃）となるにもかかわらず，成長・肥満は1982年の方が優れていることから，この程度の温度差範囲内では，成長・肥満の差異は必ずしも水温にのみ支配されないといえる。ただ，1982年は例年摂餌活動の低下する飼育後半期の水温が，やや高めに推移したので，そのことが影響している可能性も考えられる。

成長・肥満に影響する条件として，水温の他に，種苗の質的差異，餌付け，輸送方法などをも含めた飼育技術の差異などについても比較検討したが，それらの点で特に顕著な差異があったとは認め難い。

飼育経過日数（t）と体長（BL, cm），体重（BW, g）の関係について回帰直線を求めると，BL＝24.49＋0.123t（1981），BL＝18.49＋0.211t（1982）となり，BW＝159.67＋9.19t（1981），BW＝30.20＋14.23t（1982）となって，何れも1981年に対して'82年の方が明らかに成長速度が大きい。

なお，尾叉長（FL, cm）と体重（BW, g）から肥満度C（$BW/Fl^3\times10^3$, $g/cm^3\times10^3$）を求め，飼育日数（t）との関係をみると，1981，'82の間に差異は認められず，併せてC＝16.18＋0.059tとなる。この場合，体長のみわかって尾叉長の測定値を欠く個体については，変換式 FL＝－1.42＋1.05BL（61事例より作成した）によって尾叉長を推定している。

（c） 投餌率と餌料転換効率　**Fig. 6** に陸上水槽における日間投餌量の推移を示した。何れも初期に22～30%と高くて，直後に急減し（12～20%），その後は水温の下降に伴って漸減する。

ことに水温が15℃前後にまで下降する12月以降では，1.0～1.6%(1981)，と3.2～3.6%(1982)と極端な摂餌不振に陥っている。ただ，この場合，同じ15℃の水温条件下でも，前日より下降した時の15℃では摂餌せず，上昇した時の15℃では摂餌がみられた点や，海面生簀網で，12月，水温12℃の日に摂餌が観察された点は，今後魚類の摂餌習性を考える立場から興味深い。

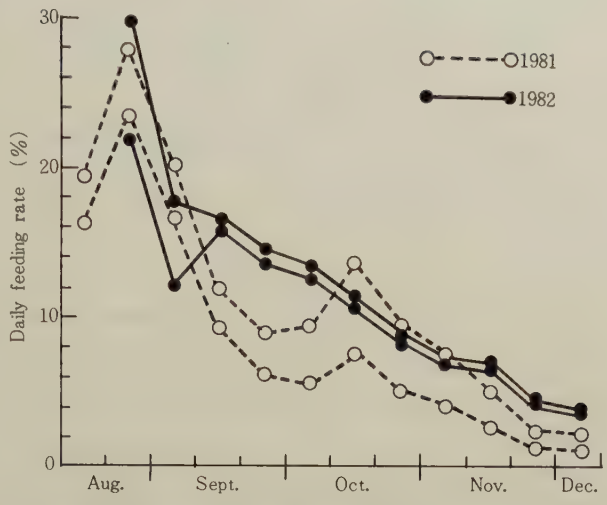


Fig. 6. Changes of daily feeding rate. The reason of two lines in each year is the same as Fig. 5.

飼育期間中の餌料転換効率は1981年が18.3～27.1%，1982年が18.8～23.6%であり，この数値を増肉係数に変換すると3.69～5.46（1981）と4.24～5.32（1982）となる。なお，これらの数値に幅を持たせたのは，飼育試験期間中に生じる不明魚が試験の最初に死亡した場合と，最後に死亡した場合を考慮に入れたためであるが，仮に行方不明魚が最初に出ていたとしても，餌料転換効率は20%，増肉係数では5前後が見込まれる訳であり，ハマチの餌料転換効率10～16%，増肉係数7～8（南沢・酒井1969）に較べた場合，極めて効率が良い魚種であるということができよう。

本研究を遂行するにあたり，外海資源部古藤研究室長をはじめ室員の方々，並びに上ノ加江漁業協同組合浅野組合長・斉藤専務には供試魚の確保から餌付け試験において，また，尾道市吉和漁業協同組合の浜田氏には海面生簀飼育において，一方ならぬ御協力を賜った。記して厚くお礼申し上げる。

摘　　要

クロマグロ幼魚（ヨコワ）の環境馴致を行なって長期間飼育の可能性を吟味し，その間における魚の行動，成長・肥満，餌料転換効率，生残率などを明らかにする目的で，高知県沖で採捕したヨコワを瀬戸内海へ搬入飼育して次の結果を得た。

1. 瀬戸内海において，夏季から年末に至る間のクロマグロ幼魚の飼育が可能である。

2. 陸上水槽の場合，12月，実験終了時の平均尾叉長は42cm，体重1.6kgであり（海面生簀では43cm・1.7kg），成長・肥満と飼育日数との関係は，成長のよい1982年の場合，$BL=18.49+2.11t$，$BW=30.20+14.23t$であった。この成長・肥満は，同海域，同様条件下におけるハマチの1kg前後と比較して著しく良好であり，ヨコワの成長・肥満ポテンシャルの大きいことを示唆している。

3. 飼育期間中の日間投餌率は高水温期20～30%，低水温期1～3%であり，15℃以下に下降

すると摂餌行動は極端に低下する。海面生簀網では12月，12℃時点での摂餌事例が観察された。

4．餌料転換効率は約20%，増肉係数は5前後であり，この点においても同海域におけるハマチと比較して著しく良好である。

5．1980年から'82年にかけて，3回に亘る飼育試験の結果，12月時点での生残率は陸上水槽6～8%，海面生簀網16%前後と低く，今後はこの点に関する飼育技術改善の必要がある。

文　　献

遠洋水研，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭，45—48），水産庁調査研究部.

HARADA, T, 1978：Recent tuna culture research in Japan. 5th Intnl. Ocea. Develop. Conf. Preprint (I), C1～55.

原田輝雄，1980：マグロ類の養成研究の進展と展望，昭和54年度マグロ漁業研究協議会議事録，50–58.

広田仁志・生田敬昌・森田正一，1976：クロマグロの養成について，栽培技研，5 (1)，1－9.

井上元男・天野良平・岩崎行伸・青木光義，1967：飼育によるマグロ類の生態研究—1，長時間飼育と生態観察，東海大紀要，海洋（2），179–209.

近畿大学，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭．45–48），水産庁調査研究部.

高知県水試，1977–'81：沖合漁場利用養殖技術開発企業化試験——暖流系魚類——昭和51～55年度研究成果報告書.

久保伊津男，1961：水産資源学各論，水産学全集，14，恒星社厚生閣，東京.

松尾薫，1981：クロマグロ幼魚の生理生態——陸上施設における飼育条件，MRP，クロマグロ，水産庁遠洋水研.

三重県尾鷲水試，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭．45–48），水産庁調査研究部.

長崎県水試，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭．45–48），水産庁調査研究部.

静岡県水試，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭．45–48），水産庁調査研究部.

東海大学，1970–'72：マグロ類養殖技術開発企業化試験報告，（昭．45–48），水産庁調査研究部.

津田平蔵・中尾幹郎，1982：クロマグロ幼魚の生理生態——陸上施設における飼育条件，MRP，クロマグロ(2)，水産庁遠洋水研.

————・川元功，1983：クロマグロ幼魚の生理生態——陸上施設における飼育条件，MRP，クロマグロ(3)，水産庁遠洋水研.

上柳昭治・木川昭二・西川康夫・須田明，1973：マグロ類養殖技術開発試験報告，1970年4月～1973年3月，遠水研，S Series, 8,165pp.

山中一，1982：太平洋におけるクロマグロの生態と資源，水産叢書34，日本水産資源保護協会.

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

1983年5月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布

今井　一郎・伊藤　克彦

Distribution of Heterotrophic Microflagellates in Suō-Nada, Western Seto Inland Sea, in May 1983.

Ichiro Imai and Katsuhiko Itoh

Ditribution of heterotrophic microflagellates (HMF,<10μm) and bacteria were investigated in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May 1983. Measurements of number of cells and size were made using epifluorescence microscopy with the DAPI-FITC double stained samples. HMF can easily be distinguished from autotrophic nanoplankton by this method.

The majority of HMF cells (59%) was smaller than 4μm in diameter, with the mean cell volume of 57μm^3.

The number of HMF ranged from 0.5 to 3.5×10^3 cells$\cdot ml^{-1}$. They occurred in higher concentrations in the bottom layer of inshore areas. The proportion of HMF to the total nanoplankton in number increased below 20-30m in the offshore areas, although the number was not so abundant there. The greater part of HMF (average 85%) appeared to be free-living.

The number of bacteria ranged from 0.4 to 2.2×10^6cells$\cdot ml^{-1}$, and the amount of carbon from 3.2 to 17.4mgC$\cdot m^{-3}$. A correlation ($r=0.57$, $P<0.001$) was obtained between the number of bacteria and HMF. The mean number of bacteria was three orders of magnitude larger than HMF. The carbon amounts of HMF were found in the range between 1.9 and 13.9 mgC$\cdot m^{-3}$. Thus, the carbon of HMF occupied about 50% of bacterial carbon, which indicate the quantitative importance of them as a constituent of plankton population.

従属栄養性微小鞭毛虫類（Heterotrophic microflagellates: HMF）は海洋環境中に数多く存在し（Pomeroy and Johannes 1968, Sorokin 1977），細菌を捕食する（Haas and Webb 1979, Fenchel 1982a, b, Yamamoto *et al.* 1982）ことから，食物連鎖において細菌と動物プランクトンを結ぶ重要な生物群であると認識されるようになった(Sieburth *et al.* 1978, Fenchel 1982c)。また，細菌と共に，食物連鎖モデルの中にこの生物群を明確に位置付けする努力も払われてきている（Williams 1981, Azam *et al.* 1983)。

しかし，HMF を定量的に把握した研究は少ない。これは HMF の大きさが植物性ナノプランクトン（Autotrophic nanoplankton: ANP）に近く，分類学的にも同じ仲間に属する場合が

1984年6月25日受理，南西海区水産研究所業績第152号，〒739-04，広島県佐伯郡大野町

多いことから，両者の識別が非常に困難であったためである。

近年落射螢光顕微鏡を用い，光合成色素の有無を両者の識別の基準にして，HMF をかなり正確に計数できるようになった（Sherr and Sherr 1983a, Caron 1983）。そこで，本研究においてはこの HMF の計数法（Sherr and Sherr 1983a）に改良を加えて計数精度を高め，瀬戸内海西部に位置する周防灘において HMF の細胞数と粒子径分布を測定した。同時に，海洋細菌の全細胞数および炭素量を測定し，HMF と細菌の量的関係について検討した。なお本報において HMF と ANP は共に10 μm 以下の大きさのものを対象としている。

本研究は科学技術庁科学技術振興調整費による「海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究」の一部として実施したものである。

本稿を草するにあたり，懇篤なる御指導と御助言を賜わった京都大学農学部水産学科石田祐三郎教授，ならびに南西海区水産研究所赤潮部長安楽正照博士に心から感謝の意を表する。また，採水などの海上作業において御協力いただいた南西海区水産研究所調査船しらふじ丸の乗員各位に深謝する。

材料および方法

1. 採水と採水地点

1983年5月14日と15日に，Fig. 1 に示した周防灘の調査定点において，バンドーン採水器を用いて0m，5mと10m以深は10m間隔の各層，および海底より1m上層の B-1mから採水を行なった。採水試料は100ml ポリ容器（HMF 用）とねじ口試験管（海洋細菌用）に分取し，両方共グルタールアルデヒドで固定（最終濃度0.5%）した後，暗所に冷蔵保存した。

2. HMF の細胞数と粒子径

HMF と ANP は，Fluorescein isothiocyanate（FITC）による細胞質蛋白の染色（Sherr and Sherr 1983a）と DNA に特異的に結合する 4′ 6-diamidino-2-phenylindole（DAPI）（Porter and Feig 1980）による核染色の二重染色を施し，落射螢光顕微鏡（オリンパス BH 2-RFL, ×100対物レンズ使用）を用いて観察計数を行なった。この二重染色法は，Sherr and Sherr (1983b) によってごく最近発表されたものと原理的には同じであるが，FITC と DAPI の使用濃度および染色処理操作が相違している。

各試料を共栓試験管あるいは共栓三角フラスコに10—50mlとり，DAPI を最終濃度0.1 $\mu g \cdot ml^{-1}$，および FITC を2-4 $\mu g \cdot ml^{-1}$ になるように各々加えた。5分間以上染色した後，Sudan black B で染めた孔径 1.0 μm の Nuclepore フィルター（Zimmermann *et al.* 1978）上に染色試料をろ過捕集し，除菌海水で洗浄を行ない，フィルターを乾燥させないでスライドグラス上に置いてただちにカバーグラスと共に無螢光イマージョンオイルで封入して計数用標本を作成した。落射螢光顕微鏡を用いて，青色励起光と紫外線励起光を使い分け，接眼格子（10×10）内あるいは全視野内に見える HMF を25視野以上，合計50細胞以上計数し，同時に ANP を計数することによって，試料中のそれぞれの細胞数（cells·ml^{-1}）を求めた。ただし，ANP のうち単細胞性の微小

Fig. 1. Location of sampling stations in Suō-Nadā, western Seto Inland Sea. East-West and North-South sections are shown by solid lines.

な藍藻（Chroococcoid cyanobacteria）（JOHNSON and SIEBURTH 1979）は除外した。細胞数と粒子径の測定は試料採集後約4週間以内に行なった。

染色に用いた DAPI 溶液は，5.0 μg·ml^{-1} の濃度で蒸留水中に溶解し，0.22 μm メッシュの Millipore フィルターでろ過した後グルタールアルデヒドを少量（最終濃度0.5%）加えて冷蔵保存したものである。FITC 溶液は，Na-carbonate buffer（0.05M, pH＝9.4）中に 200 μg·ml^{-1} の濃度で溶解させ，DAPI と同様に処理したものである。

HMF の粒子径の測定には，Sts. 3, 6, 10, 11, 15 と 17 の表層（0 m），中層（5 mあるいは10m）および底層（B-1m）の試料を用い，各試料につき48—63細胞の粒子径を接眼ミクロメーターで測定した。球状に見える細胞についてはその直径を，その他の形状のものは長径と短径を測定し，各々球形および回転楕円体として体積を計算した。HMF の1細胞あたりの炭素含量は，各試料における平均体積から得た全体の平均体積に炭素量変換係数0.07gC·cm^{-3}（SOROKIN 1979）を乗じて求めた。これに HMF 数を乗じて炭素量（mgC·m^{-3}）を算出した。

3. 海洋細菌の細胞数と炭素量

DAPI で螢光染色した試料を，Sudan black B で染めた0.2 μm 孔径の Nuclepore フィルター上にろ過捕集し，常法（今井1984）によって落射螢光顕微鏡を用いて細菌数（cells·ml^{-1}）を求めた。

細菌体積の測定には，Sts. 3, 10, 11 および17の4定点の各層試料を用いた。各試料について，116—160細胞の体積を，画像解析処理法（今井1984）に従って求め，各定点における平均体積の値から細菌の全平均体積を算出した。これに炭素量変換係数 0.087gC·cm^{-3} (Ferguson and Rublee 1976) を乗じて1細胞あたりの炭素含量を求め，さらに細菌数を乗じて炭素量 (mgC·m^{-3}) を計算した。

結　　果

1. HMF の細胞数と炭素量

(i)HMF の観察　　DAPI-FITC 二重染色による HMF の螢光顕微鏡写真の例を Plate I に示した。(A)は，青色励起光を用いて撮影したもので，ANP はクロロフィルの一次螢光によって細胞内の葉緑体が赤—橙色に輝くのに対し，HMF は FITC によって細胞全体が緑色に見えるので，両者は容易に区別できる。(B)も(A)と同じ励起光を用いたもので，Choanoflagellate が中央に見える。同じ視野のものを紫外線励起光で撮影したものが(C)である。核は DAPI によって青色の螢光を発し，核を持たない非生物粒子との区別が容易である。また，Choanoflagellate の細胞内には，細菌とほぼ同じ大きさの青色の粒子が多数みとめられた。他にも，HMF の食胞と思われる細胞内の袋の中に，小さな青色粒子が詰まっているのがしばしば観察された。また，無色の Cryptophyceae の細胞内に単細胞性の微小な藍藻が時折みとめられた。

(ii)HMF の粒子径　　総計979細胞の HMF の粒子径分布を Fig. 2 に示した。球形換算の直径で2 - 3 μm の粒子径画分のものが全体の33%と最も数多く存在し，4 μm 以下の比較的小形のもので59%を占めた。3 μm 以上の画分では粒子径が大きくなるにつれて数が減少した。なお，データとして示さなかったが，10 μm 以上の HMF は光合成色素を持たない Dinoflagellates が

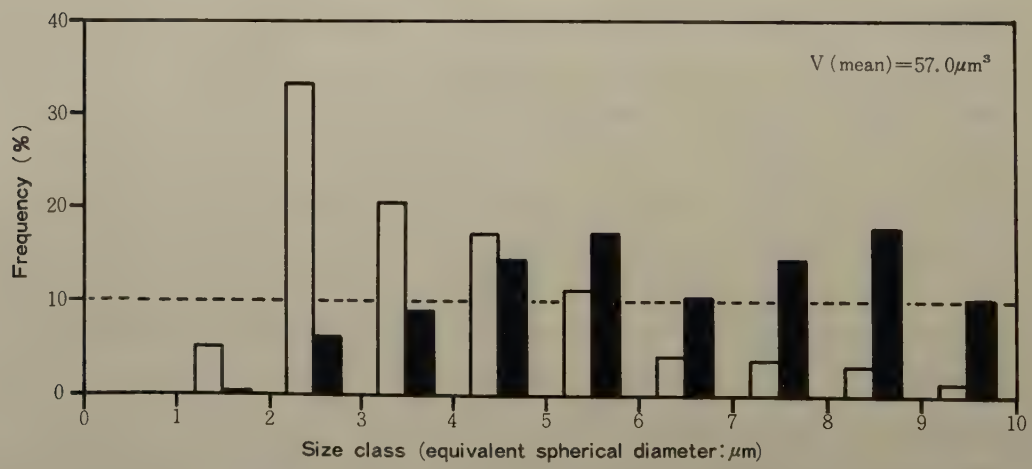


Fig. 2. Frequency of size distribution of heterotrophic microflagellates. Open column means percentage of the total cell number (n=979), and closed column indicates percentage of the total volume.

きわめてまれに見られる程度であった。一方，全体の体積に対して占める各粒子径画分の割合は細胞数の場合と異なり，4 μm までの画分では粒子径が大きくなるにつれて高くなるものの，合計しても全体の15%を占めるに過ぎなかった。4 μm 以上では各画分とも10—20%であり，比較的一定した割合を占めた。

各層試料の HMF の平均体積は23.6

Table 1. Number and carbon of heterotrophic microflagellates (HMF) and bacteria in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May 1983.

		Min.	Max.	Mean
HMF	No. ($\times 10^3 ml^{-1}$)	0.5	3.5	1.4
	Carbon ($mg \cdot m^{-3}$)	1.9	13.9	5.5
Bacteria	No. ($\times 10^6 ml^{-1}$)	0.4	2.2	1.4
	Carbon ($mg \cdot m^{-3}$)	3.2	17.4	11.2

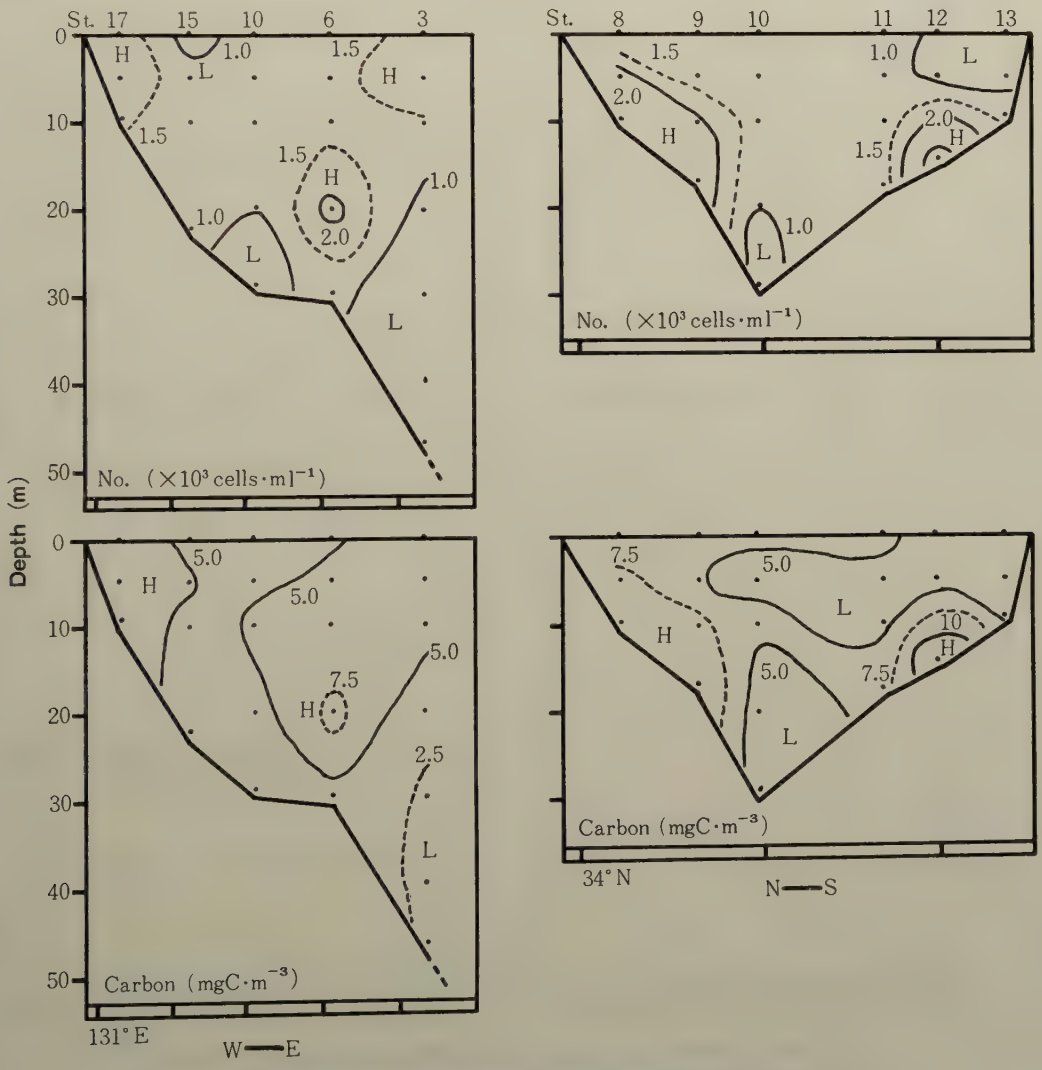


Fig. 3. Distribution of heterotrophic microflagellates in number and carbon along the East-West and North-South sections.

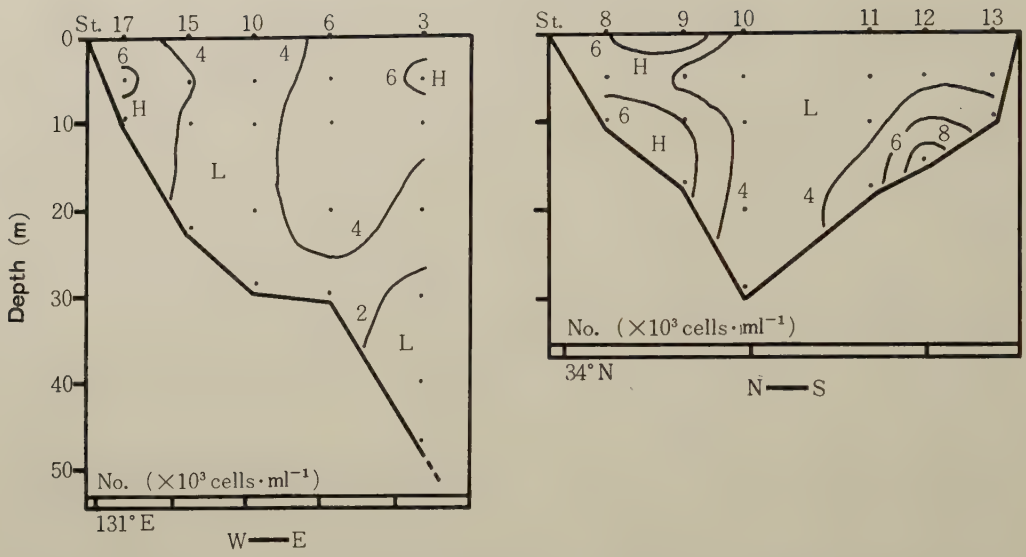


Fig. 4. Distribution of total nanoplankton (heterotrophic microflagellates + autotrophic nanoplankton) in number along the East-West and North-South sections.

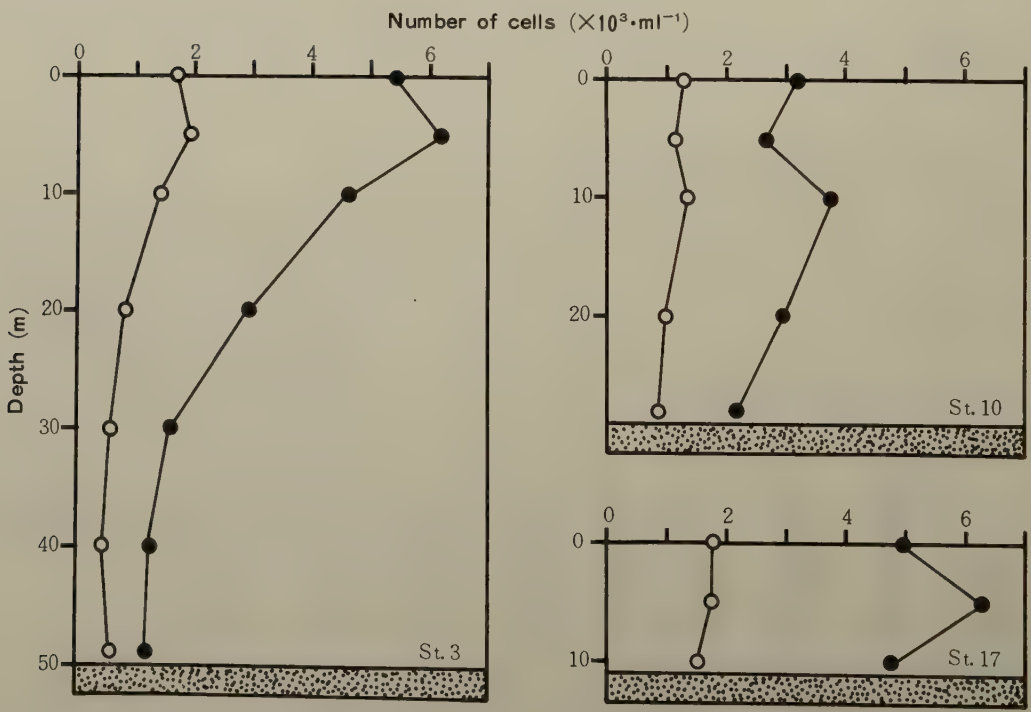


Fig. 5. Vertical profiles of heterotrophic microflagellates (open circle) and total nanoplankton (closed circle) in number at Sts. 3, 10 and 17 in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

μm^3 (St. 11, 0 m)-102.5 μm^3 (St. 10, B-1m) の範囲の値を示し，全体の平均値は57.0 μm^3 (球形換算の直径で4.8 μm) であった。

(iii)HMF の細胞数と炭素量　HMF の細胞数と炭素量の値の範囲はそれぞれ，0.5-3.5×10^3 cells·ml^{-1} と1.9-13.9 mgC·m^{-3} であった (Table 1)。灘の東西・南北両断面における HMF の細胞数と炭素量の鉛直分布を Fig. 3 に示した。東西断面においては，東部(St. 3) の20m以深と中央部 (Sts. 10と15) で少なく，灘東部 (Sts. 3 と 6) の表—中層と西部沿岸域の St. 17で多かった。南北断面では，全般的に表層と中央部で少なく，南部および北部沿岸域の底層に多く分布した。とくにSt. 12 の底層では，3.5×10^3 cells·ml^{-1} と際立って高密度に分布していた。

(iv)HMF と全ナノプランクトンの細胞数　HMF と ANPを合せた全ナノプランクトン(Total

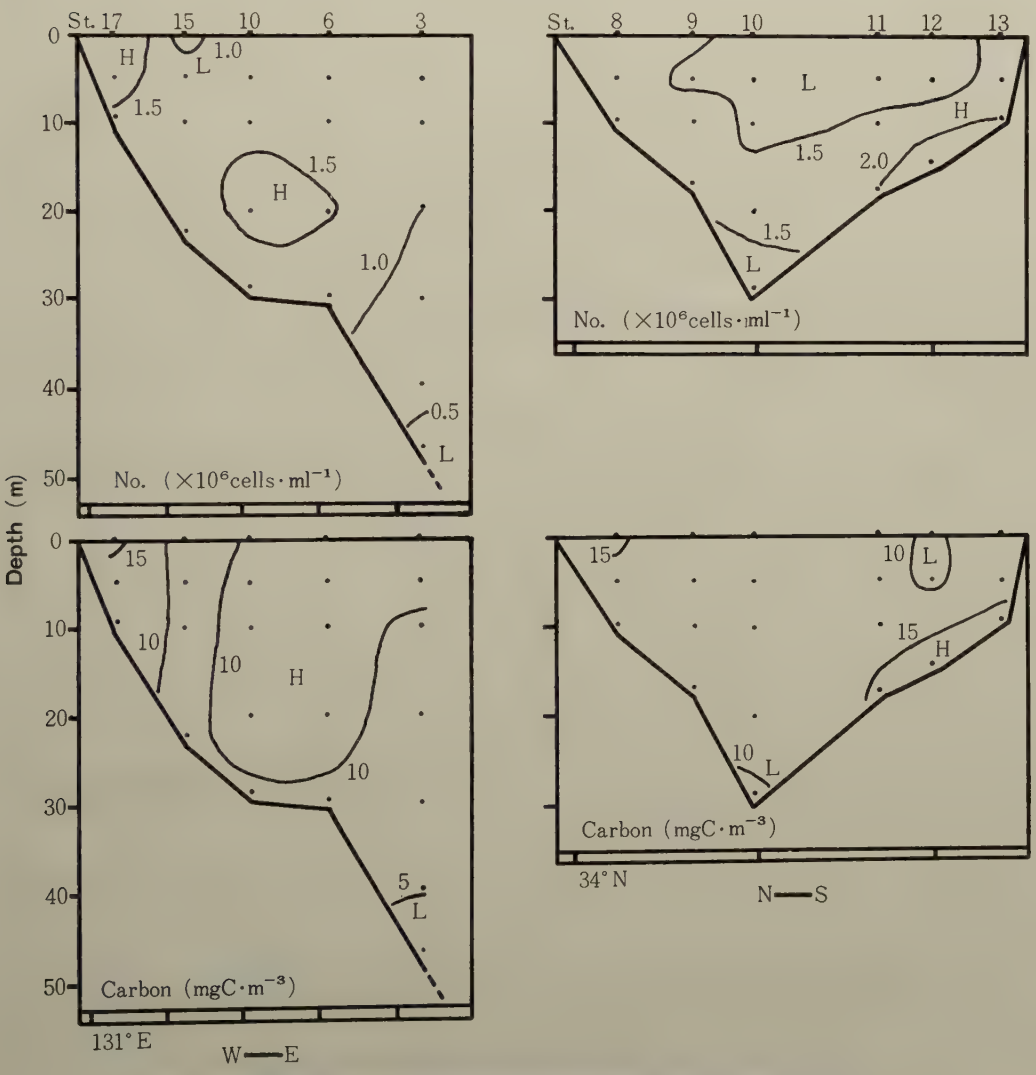


Fig. 6. Distribution of bacterial cell number and the amount of carbon along the East-West and North-South sections.

nanoplankton : TNP）は，灘全体で1.1-9.5×10^3 cells・ml^{-1} の範囲で分布した。東西および南北の両断面における鉛直分布は，HMF と類似した様相を示した（Fig. 4）。東西断面では西部沿岸域と東部の表層に多く，中央部（Sts. 10, 15）と東部（St. 3）の深層部に少なかった。南北断面においては，北部に多く，また北部および南部両沿岸域の底層に多く見出されたが，中央と南部表層で少なかった。

次に，灘東部の St. 3, 中央部の St. 10および西部沿岸域の St. 17 における HMF と TNP の細胞数の鉛直分布を Fig. 5 に示した。水深の大きい St. 3 では，深くなるに従い TNP と HMF は共に減少した。しかし，HMF の TNP に占める割合（H/T）は，0—20mで28—31%，30m—B-1mでは35—48%と，底層になるほど HMF の割合が高くなった。それに対し，Sts. 10および17では，St. 3 のような際立った特徴は見出せなかった。全試料を平均した H/T は約32%である。

2. 海洋細菌と HMF の分布

(i)海洋細菌数と炭素量　Sts. 3, 10, 11および17の試料から画像解析によって求めた細菌の平均体積は0.089μm^3 であった。細菌数および炭素量は，各々0.4-2.2×10^6cells・ml^{-1}，3.2-17.4mgC・m^{-3}の範囲にあった（Table 1）。東西および南北の両断面における細菌数と炭素量の鉛直分布を Fig. 6 に示した。東西断面においては西部沿岸域に多く，東部沖合の St. 3 の深層で少なかった。南北断面においては中央部の表層と底層に少なく，南部沿岸域の底層に多く分布した。

(ii)HMF と海洋細菌の炭素量と細胞数　HMF と細菌の炭素量における鉛直分布を，Sts. 3, 10および17を例にして Fig. 7 に示した。St. 3 においては，細菌と HMF いずれも深度と共に

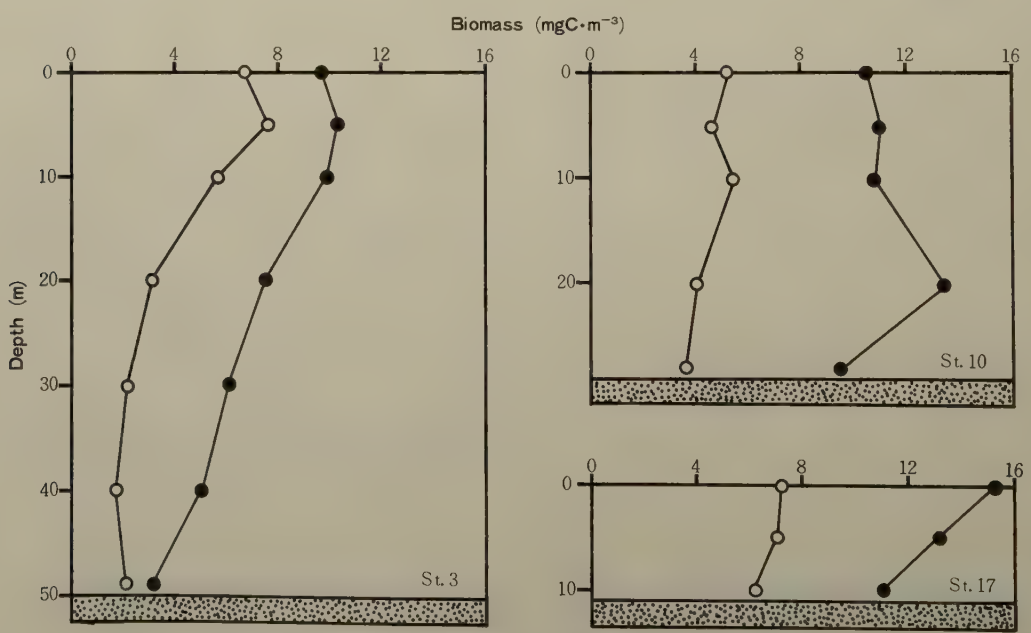


Fig. 7. Vertical profiles of heterotrophic microflagellates (open circle) and bacteria (closed circle) in carbon at Sts. 3, 10 and 17 in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

減少した。Sts. 10と17についてはこのような特徴はみとめられず，鉛直的な分布の変化は大きくなかった。炭素量で表わした海洋細菌に対する HMF の割合は，全試料で23—102%の範囲で，平均は約50%であった。

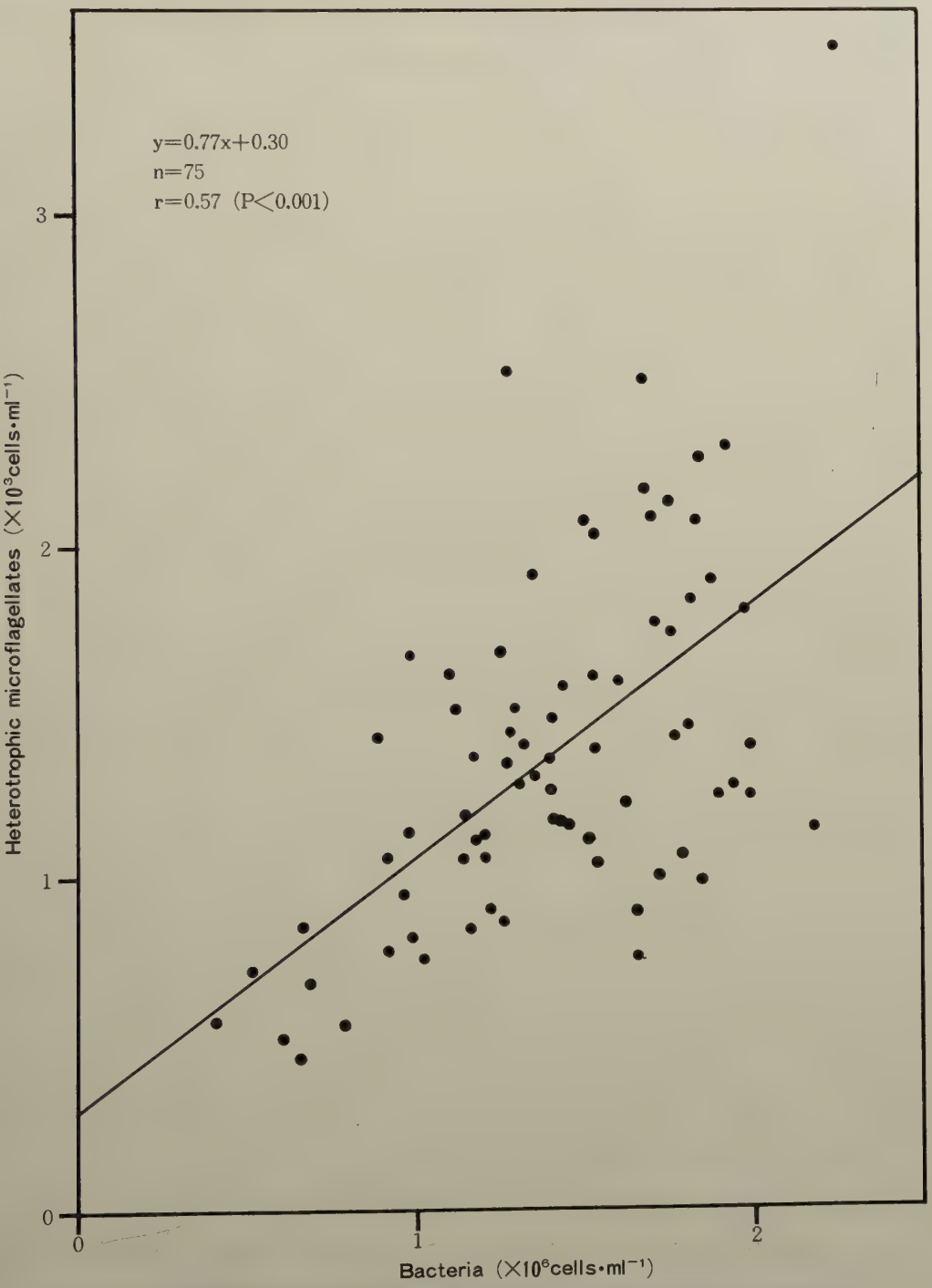


Fig. 8. Relationship between the number of bacteria and heterotrophic microflagellates in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May 1983.

各定点の全試料について測定した細菌数と HMF 数の関係および両者の間に回帰直線を当てはめた結果〔$y=0.77x+0.30$ {y: HMF 数（$\times 10^3$ cells・ml^{-1}），x：細菌数（$\times 10^6$cells・ml^{-1})}〕を Fig. 8 に示した。相関係数 r は0.57（$P<0.001$）で，両者の間の相関はかなり高いことがわかる。また，全域における細菌の平均細胞数は 1.4×10^6 cells・ml^{-1} であり，それに対して HMF は 1.4×10^3 cells・ml^{-1} の値を示し，前者は後者の約10^3 倍であった。

考　　察

DAPI-FITC 二重染色と落射螢光顕微鏡による HMF の観察計数方法の特徴は，①FITC によって HMF の細胞全体が緑色の螢光を発し形態を確認できる，②ANP は葉緑体が赤―橙色に見えるため HMF との区別が容易である，③DAPI によって HMF の核や細菌が青く見えるので形状の似た非生物粒子との区別が容易である，④デトライタスが多くても紫外線励起下ではバックグラウンドが少なく，青色に見える核を探すことによって HMF の検出が簡単にできる，等である。Caron（1983）によると，FITC を高濃度で用いた場合，葉緑体の発する一次螢光が FITC による螢光に干渉されて ANP を過少評価してしまうことがあり，逆に低濃度で用いた場合は，HMF の染色が弱くなって HMF の過少評価が起ることが指摘されている。また，FITC はある種のデトライタスを著しく染色してしまうので，デトライタス上あるいはその周辺に位置する HMF の検出が困難であるとも指摘されている。しかし，著者らの用いた方法は，使用した FITC 濃度が Sherr and Sherr（1983a）の約0.4 mg・ml^{-1}よりも低いうえに，DAPI によって核も染めているので，染色の過不足に原因する HMF や ANP の過少評価の問題はほとんど克服できたと考えられる。また，FITC による，ある種のデトライタスの染色の問題も④の利点によって克服されている。さらに，Plate I（C）に示したように，DAPI によって HMF の細胞内に取り込まれた細菌を検出できる可能性も示唆された。

周防灘における HMF の細胞数および炭素量はそれぞれ，$0.5-3.5\times10^3$（平均1.4×10^3 cells・ml^{-1}）と1.9-13.9（平均5.5 mgC・m^{-3}）で，沿岸域において高く，灘中央部や東部の中層以深で低かった。HMF 細胞数に関しては，米国ジョージア州の河口域の最大 4.0×10^3 cells・ml^{-1} から沖合水域での最小0.3×10^3 cells・ml^{-1}（Sherr and Sherr 1983a）の値や，デンマークのフィヨルドにおける夏季の0.2×10^3 以下－3.0×10^3（平均1.0×10^3 cells・ml^{-1}）（Fenchel 1982c）の値，また炭素量においては米国ジョージア州沖合での最小値0.6から沿岸の最大値9.5 mgC・m^{-3}（Sherr *et al.* 1984）や，ペルー沿岸の富栄養湧昇水域の50.4 mgC・m^{-3} や北赤道海流の貧栄養水域での最小値0.35 mgC・m^{-3}（Sorokin 1979）等の値が報じられており，著者らの報告も含めて，富栄養化の程度に応じて HMF の細胞数と炭素量が増加することが明らかである。

全ナノプランクトン（TNP）に対して占める HMF の割合（H/T）は，鉛直的には全般に euphotic zone 以深の深層で高くなる傾向があり，これは Pomeroy and Johannes（1968）の観察にも同様にみられている。一方，水平的には Sherr and Sherr（1983a）のように，H/T が河口域で8.5%と低く沖合域では39%と高くなるような傾向は，著者らの周防灘における測定結

果では顕著に認められなかった。両者の結果の相違の原因は不明である。

ところで，海水中の有機物凝集体（Macroaggregates）上には，細菌や HMF, 繊毛虫等が多く存在すると言われている（Caron *et al.* 1982）。Fenchel (1982c) は，海水を20 μm の篩でろ過した場合とろ過しない場合の HMF 数を比較し，前者で 3.6×10^2 cells·ml^{-1}，後者で 8.5×10^2 cells·ml^{-1} の結果を得て，HMF の大部分が懸濁粒子に関係していると述べている。しかしながら，周防灘の Sts. 3, 10, 11および17の4定点の試水16試料において，目合い20 μm のナイロン網地を篩として自然落下でろ過した海水中の HMF 数の，未処理海水中の HMF 数に対する比率をみると，59.8—129.6%（平均84.5%）と高く，これらの値は Fenchel (1982c) の結果と著しく異なった。その原因は明確ではない。ただ細菌の場合，懸濁粒子濃度の高い水域で粒子付着細菌数の割合が高くなるという報告（Goulder 1977）を考え合わせると，Fenchel (1982c) の用いた海水試料は浅いフィヨルドから得たものであり，懸濁粒子濃度が周防灘の場合より高かったのかもしれない。

次に，周防灘の全試料における細菌数と HMF 数の相関関係は $r=0.57$ ($P<0.001$) であり，Sherr *et al.* (1984) の場合（$r=0.83$）ほど相関は高くなかったが，周防灘全域における細菌の平均細胞数に対する HMF 細胞数の割合は約10^{-3}倍であり，Fenchel (1982c) や Sherr *et al.* (1984) の結果と類似した割合であった。炭素量で HMF と細菌の関係をみると，ほぼ1：2であり，植物プランクトンに対する細菌の炭素量の割合が約20%であること（今井1984）から考えて，HMF は海洋プランクトンの中で細菌と並んで量的に重要な位置を占める生物群であり，Fenchel (1982a, b, c) や Azam *et al.* (1983) の言うように，食物連鎖の中で細菌と動物プランクトンを結ぶ仲介者として重要な役割を演じているものと推察される。今後，細菌の生産速度や HMF による細菌捕食速度の測定を通じて，両者の関係をさらに詳細に研究することが必要であろう。

摘　　要

1983年5月に周防灘から採水試料を得て，従属栄養性微小鞭毛虫類（HMF, 10 μm 以下）および海洋細菌の分布を調べ，下記の知見を得た。

1．DAPI-FITC 二重染色と落射螢光顕微鏡を用いる方法によって，HMF と植物性ナノプランクトンの識別が容易になり，HMF の正確な観察・計数が可能になった。

2．HMF は，球形換算の直径で4 μm 以下のものが全数の59%と大部分を占めたが，体積では4 μm 以上のものが全体の80%以上を占めた。平均体積は57.0 μm^3（直径4.8 μm）であった。

3．HMF の細胞数は $0.5-3.5\times10^3$ cells·ml^{-1} の範囲にあり，灘沿岸域底層部に多く分布し，中央部や東部の中層以深で少なかった。全ナノプランクトンに対する HMF の割合は，平均32.4%であったが，東部の水深の大きい定点では20—30m以深でこの割合が高くなる傾向を示した。

4．海水の20 μm 以下の画分に HMF の大部分（平均84.5%）が存在した。

5．海洋細菌の平均体積は0.089 μm^3 であった。細菌数および炭素量は，$0.4-2.2\times10^6$cells·

ml^{-1}, 3.2－17.4 $mgC \cdot m^{-3}$の範囲で各々分布した。

6．細菌と HMF の細胞数の間にはかなりの相関（$r = 0.57$, $p < 0.001$）がみとめられた。細菌数は HMF 数の平均約10^3 倍であった。

7．HMF の炭素量は1.9-13.9 $mgC \cdot m^{-3}$の範囲で分布し，細菌炭素量の平均50%を占めており，海洋プランクトンの中で量的に相当重要な生物群であることが示唆された。

引 用 文 献

Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil and F. Thingstad, 1983 : The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar. Ecol. Prog. Ser., **10,** 257-263.

Caron, D. A., P. G. Davis, L. P. Madin and J. McN. Sieburth, 1982 : Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoa in oceanic macroaggregates. SCIENCE, **218,** 795–797.

Caron, D. A., 1983 : Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nanoplankton, using epifluorescence microscopy, and comparison with other procedures. Appl. Environ. Microbiol., **46,** 491–498.

Fenchel, T., 1982a : Ecology of heterotrophic microflagellates. I. Some important forms and their functional morphology. Mar. Ecol. Prog. Ser., **8,** 211–223.

Fenchel, T., 1982b : Ecology of heterotrophic microflagellates. II. Bioenergetics and growth. Mar. Ecol. Prog. Ser., **8,** 225–231.

Fenchel, T., 1982c : Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. Mar. Ecol. Prog. Ser., **9,** 35–42.

Ferguson, R. L. and P. Rublee, 1976 : Contribution of bacteria to standing crop of coastal plankton. Limnol. Oceanogr., **21,** 141–145.

Goulder, R., 1977 : Attached and free bacteria in estuary with abundant suspended solids. J. Appl. Bacteriol., **43,** 399–405.

Haas, L. W. and K. L. Webb, 1979 : Nutritional mode of several non-pigmented microflagellates from the York River estuary, Virginia. J. exp. mar. Biol. Ecol., **39,** 125–134.

今井一郎，1984：周防灘における海洋細菌の粒子径組成と現存量．南西海区水産研究所報告，(17) 183–196.

Johnson, P. W. and J. McN. Sieburth, 1979 : Chroococcoid cyanobacteria in the sea : A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. Limnol. Oceanogr., **24,** 928–935.

Pomeroy, L. R. and R. E. Johannes, 1968 : Occurrence and respiration of ultraplankton in the upper 500 meters of the ocean. Deep-Sea Res., **15,** 381–391.

Porter, K. G. and Y. S. Feig, 1980 : The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr., **25,** 943–948.

Sherr, B. and E. Sherr, 1983a : Enumeration of heterotrophic microprotozoa by epifluorescence microscopy. Est. Coast. Shelf Sci., **16,** 1–7.

Sherr, E. B. and B. F. Sherr, 1983b : Double-staining epifluorescence technique to assess frequency of dividing cells and bacteriovory in natural populations of heterotrophic microprotozoa. Appl. Environ. Microbiol., **46,** 1388–1393.

Sherr, B. F., E. B. Sherr and S. Y. Newell, 1984 : Abundance and productivity of heterotrophic nanoplankton in Georgia coastal waters. J. Plankton Res., **6,** 195–202.

Sieburth, J. McN., V. Smetacek and J. Lenz, 1978: Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. Limnol. Oceanogr., **23,** 1256–1263.

Sorokin, Yu. I., 1977: The heterotrophic phase of plankton succession in the Japan Sea. Mar. Biol., **41,** 107–117.

Sorokin, Yu. I., 1979: Zooflagellates as a component of the community of eutrophic and oligotrophic waters in the Pacific Ocean. Oceanology, **19,** 316–319.

Williams, P. J. LeB., 1981: Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the plankton food web. Kieler Meeresforsch., Sonderh., **5,** 1–28.

Yamamoto, H., Y. Ezura and T. Kimura, 1982: Evaluation of biological agents affecting on the survival of *Vibrio parahaemolyticus* in seawater. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **48,** 1433–1439.

Zimmermann, R., R. Iturriaga and J. Becker-Birck, 1978: Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. Appl. Environ. Microbiol., **36,** 926–935.

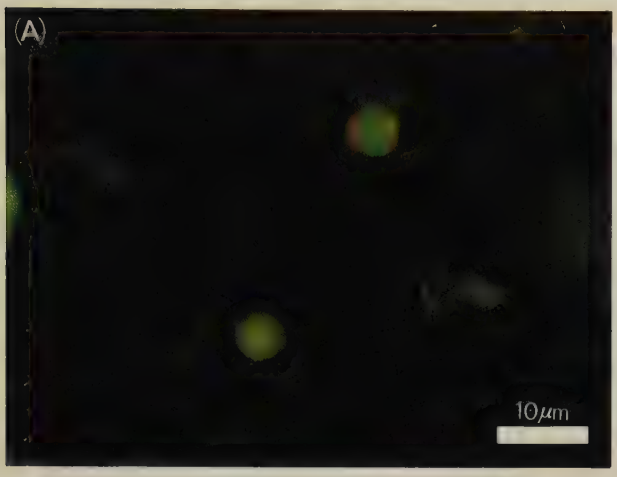
Explanation of Plate I.

Plate I. Epifluorescence microphotographs of heterotrophic microflagellates in the samples collected in Suō-Nada. The samples were stained with DAPI and FITC.

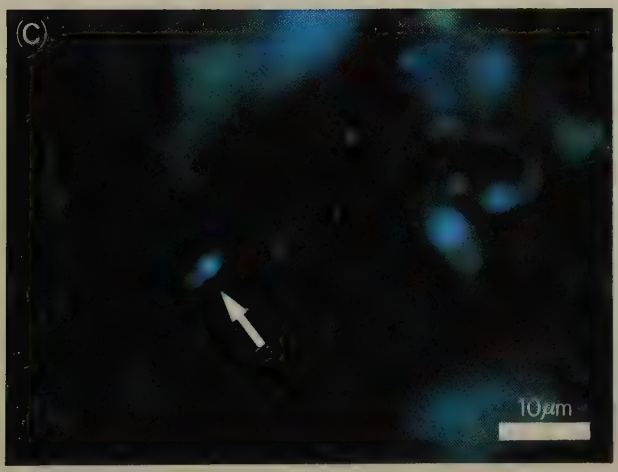
(A) A heterotrophic microflagellate and an autotrophic nanoplankton observed under blue light excitation. A heterotrophic microflagellate (green fluorescence) can easily be distinguished from an autotrophic nanoplankton, which has two chloroplasts with orange fluorescence.

(B) Heterotrophic microflagellates observed under blue light excitation. A choanoflagellate cell is indicated by an arrow.

(C) An identical picture to (B) when observed under ultra violet excitation. Nuclei of heterotrophic microflagellates were clearly visible by blue fluorescence. Many blue spots of bacterial size are observed inside the cell of choanoflagellate.


(A)
10μm

(B)
10μm


(C)
10μm

別 途 発 表 業 績

Titles of separatedly issued contribution

飼育したカタクチイワシの発育と成長（英文）

福 原　　修

Development and growth of laboratory reared *Engraulis japonica* (HOUTTYN) larvae by Osamu FUKUHARA

1984年5月15日受理　業績第142号
Journal of Fish Biology 23(6), 641—552 (1983) に掲載

抄　　録

幼期におけるカタクチイワシの発育と成長を明らかにするため室内で卵から飼育した標本を用い観察した。発育については，一般外部形態，色素および鰭の発達について検鏡し，ふ化仔魚から幼魚までの形態変化を図示した。各鰭は体長21㎜までに完成し，分節は体長25㎜，分枝は体長34㎜までにそれぞれ完了した。

ふ化仔魚の標準体長は2.76±0.19（平均± SD）㎜で平均水温22.7℃で飼育した場合30日で約15㎜SLになり，62日で約30㎜SLに達した。成長は直線的で日間成長は約0.43㎜であった。

飼育には500l 水槽を使用し，培養したシオミズツボワムシ，ティグリオパス，ブラインシュリンプ幼生およびオキアミを餌料として与えた。シオミズツボワムシについてはふ化後10日目までは106μm のネットで沪過し与えた。

アイナメの仔稚魚期における成長と発育（英文）

福原　修・伏見　徹

Development and early life history of the greenlings *Hexagrammos otakii* (Pices: Hexagrammidae) reared in the laboratory by Osamu FUKUHARA and Toru FUSHIMI

1984年5月15日受理　業績第143号
日本水産学会誌 49(12), 1843—1848 (1983) に掲載

抄　　録

アイナメの初期生活史を明らかにするため，飼育標本（体長7～50㎜）を用いて色素，鰭の発達を中心に形態変化を観察した。仔魚から稚魚への形態的移行は体長で14.7～18.7㎜の間，ふ化

後約40日頃に起った。そして軟条の分節は体長約20㎜までに完了した。これら飼育魚の形態変化は天然魚の観察例と比較して大きな差異は認められなかった。成長は仔魚期はゆるやかで稚魚期は早く，105日で平均体長46.1㎜に達した。

Temora turbinata（橈脚類，カラヌス目）の発育段階（英文）

古賀文洋

The developmental stages of *Temora turbinata* (Copepoda, Calanoida) by Fumihiro KOGA

1984年6月21日受理　業績第149号
日本プランクトン学会報 31(1)，43—52（1984）に掲載

抄　　録

日本近海の *Temora* 属の *Temora turbinata*, *T. stylifera*, *T. discaudata* に未成熟個体の形態の混同があり，*T. turbinata* の生活史を研究し，その解決を図った。

成熟した *T. turbinata* から卵及びノープリウスを得，成体まで成長させた。ノープリウスはオタマジャクシ状，コペポダイト期はカブトエビ状で，頭部両後端に突起がある。このノープリウスの1対の太い尾棘は非対称で，等長な *T. stylifera* のものと異なる。コペポダイト後期は頭部及び胸節後端に突起がなく，*T. stylifera* との形態の差が明らかであるが，*T. discaudata* には生活史の研究がなく，検討できなかった。

太平洋中部・南部沖合底びき網漁業漁場別漁獲統計資料
昭和57年1～12月

岸田　周三・通山　正弘・堀川　博史

Taiheiyō chūnbu nanbu okiai sokobikiami gyogyō gyojōbetsu gyokaku tōkei shiryō Shōwa 57-nen 1-12 gatsu (Catch statistics by fishing area on offshore trawl fisheris in central and southern Pacific waters along Japan, January-Decmber 1982) by Shuzo KISHIDA, Masahiro TORIYAMA and Hiroshi HORIKAWA*

1984年5月15日受理　資料第13号，115P.

* see footnote of the table of contents on the back cover.

抄　　録

1982年1～12月の間に太平洋中部・南部海域を漁場とする沖合底びき網漁業者が農林水産大臣

に提出した漁獲成績報告書の集計結果である。内容は漁業種類（1そうびき・2そうびき）ごとの漁船規模および船籍県別の着業統数・航海数・操業日数・ひき網回数・漁獲量などの月別操業統計，漁区（緯経度10分ます目）別のひき網回数・主要魚種別漁獲量などの漁場別統計と，これらの統計資料から計算された資源量指数・有効漁獲努力量・漁獲努力の有効度の一覧表などに解説を付したものである。

1982年のひき網回数は，1そうびき・2そうびき漁船ともに前年と大差はなかった。漁獲量は1そうびき漁船では4,727トンで前年より2％増加したが，2そうびき漁船では7,838トンで前年より44％減少した。2そうびきの漁獲量が激減したのは，前年漁獲量の55％を占めていたウマヅラハギが著しく不漁であったためである。

BULLETIN OF THE NANSEI REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY

is issued each year with one or two numbers. All communications relating to this Bulletin should be addressed to Director.
Exchange of publication will be highly appreciated.

Address

The Nansei Regional Fisheries Research Laboratory
Director & Administrative Section
Inland Sea Fishery Resources Research Division
Apuaculture Research Division
Red-tide Research Division
7782-9 Maruishi Ôno-chô, Saeki-gun
Hiroshima-ken, 739-04, Japan

Offshore Fishery Resources Research Division
Oedanographic Research Division
6-1-21 Sanbashi-dôri, Kôchi, 780 Japan

〔非売品〕

昭和59年9月25日 印 刷　　昭和59年9月31日 発 行

広島県佐伯郡大野町丸石7789－9
発行者　南西海区水産研究所
上 村 忠 夫

印刷所　株式会社 中本本店印刷

南西水研報
Bull. Nansei Reg. Fish.
Res. Lab. No. 17, 1984

Contents

Hiroko ISHIOKA
Physiological and biochemical studies on the stress responses of the red sea bream, *Pagrus major* (TEMMINCK et SCHLEGEL)..... 1

Mineo YAMAGUCHI and Masateru ANRAKU
Primary productivity in Suō-Nada, western Seto Inland Sea..... 135

Osamu FUKUHARA and Tatsuhiro FUKUNAGA
Predation by sagitta on larval fish in earthen pond..... 151

Osamu FUKUHARA
The occurrence of deformed larva of anchovy (*Engraulis japonica*) reared in the tank..... 155

Yasuaki MASAKI and Hiroshi ITO
Re-examination of the identification of stock units of finespotted flounder, *Pleuronichthys cornutus* (TEMMINCK et SCHLEGEL) in the Sea of Iyo..... 159

Ichiro IMAI
Size distribution and biomass of bacteria in Suō-Nada, western Seto Inland Sea..... 183

Fumihiro KOGA
Influence of salinity on the morphology and growth rate of *Chattonella antiqua* (Chloromonadophyceae)..... 197

Ryo OKAMOTO, Hiroaki MATSUNAGA, Katsumi FUNAE and Minoru HISAOKA
Study on the rearing of young blueflin tuna *Thunnus thynnus orientalis* (TEMMINCK & SCHLEGEL) in Seto Inland Sea..... 207

Ichiro IMAI and Katsuhiko ITOH
Distribution of heterotrophic microflagellates in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May 1983..... 219

Titles of separatedly issued contributions

Osamu FUKUHARA
Development and growth of laboratory reared *Engraulis japonica* (HOUTTUYN) larvae..... 235

Osamu FUKUHARA and Toru FUSHIMI
Development and early life history of the greenlings *Hexagrammos otakii* (Pices: Hexagrammidae) reared in the laboratory..... 235

Fumihiro KOGA
The developmental stages of *Temora turbinata* (Copepoda, Calanoida)... 236

Shuzo KISHIDA, Masahiro TORIYAMA and Hiroshi HORIKAWA
Taiheiyō chūbu nanbu okiai sokobikiami gyogyō gyojōbetsu gyokaku tōkei shiryō Shōwa 57-nen 1-12 gatsu (Catch statistics by fishing area on offshore trawl fisheries in central and southern Pacific waters along Japan, January-December 1982)*..... 236

* In Japanese without English title. The Japanese title is given in italics with its English translation in parentheses.